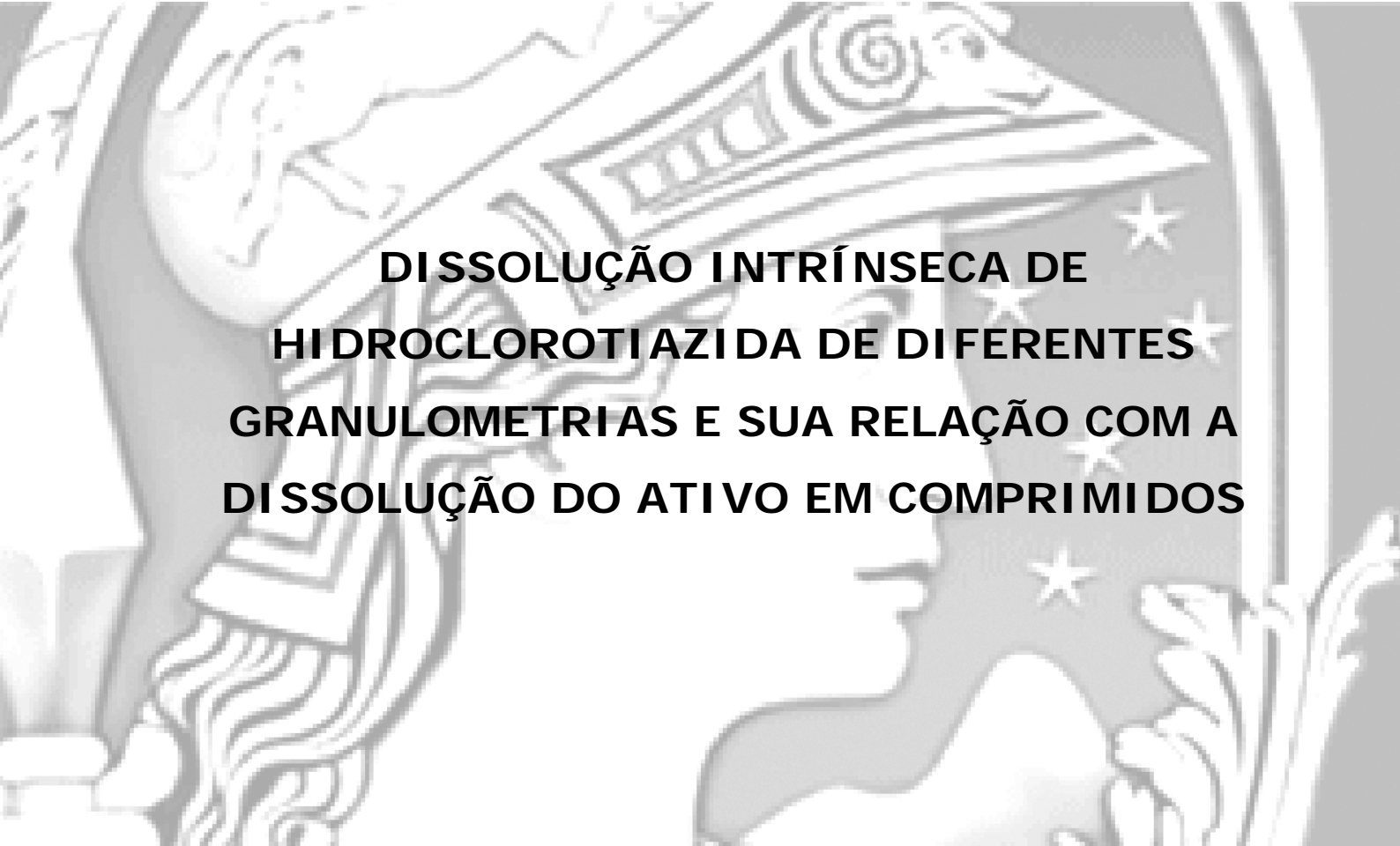


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE FARMÁCIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS



**DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DE
HIDROCLOROTIAZIDA DE DIFERENTES
GRANULOMETRIAS E SUA RELAÇÃO COM A
DISSOLUÇÃO DO ATIVO EM COMPRIMIDOS**

TATIANA CUPELLO COLONESI DA ROSA

RIO DE JANEIRO
2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE FARMÁCIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

**DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA DE HIDROCLOROTIAZIDA DE
DIFERENTES GRANULOMETRIAS E SUA RELAÇÃO COM A
DISSOLUÇÃO DO ATIVO EM COMPRIMIDOS**

TATIANA CUPELLO COLONESI DA ROSA

Dissertação apresentada para a obtenção do título
de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof^a. Dr^a. NÁDIA MARIA VOLPATO

RIO DE JANEIRO

2005

Aos meus pais, Tania e Ricardo, ao irmão,
Rafael, e ao esposo, André. Meus queridos,
exemplos de vida em família, pela
compreensão, carinho e apoio.

“Se a fé remove até montanhas,
o desejo é o que torna o irreal possível.”

Nando Reis

Agradecimentos

A Deus e ao querido mestre Jesus, aos quais muitas vezes recorri, solicitando a paz e a tranqüilidade necessárias para a realização deste trabalho.

A professora Dra. Nadia Maria Volpato, exemplo de dedicação e profissionalismo, pelos conhecimentos transmitidos, e principalmente, pela sua compreensão, amizade e apoio.

A Rui de Souza Cruz, da empresa Chroma do Brasil Ltda. e a Monalisa Santos, da FURP/SP, pelo empréstimo do dispositivo para realização do ensaio de dissolução intrínseca em disco.

Ao professor Dr. Lúcio Mendes Cabral, pela disponibilização da prensa hidráulica utilizada na formação das pastilhas.

A Marlos Melo, chefe do Laboratório de Insumos da Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A., pela disponibilização do equipamento de difração a laser, utilizado na análise de granulometria das matérias-primas.

A Nivaldo Nazareth pela confecção de novos parafusos de teflon e conserto da matriz do dispositivo de dissolução intrínseca.

A todos os professores, funcionários e alunos do LabCQ.

Aos amigos do mestrado, em especial a Edilene, Ana e Márcio.

Enfim, agradeço sinceramente a todos aqueles que, mesmo sem perceber, contribuíram para tornar real este trabalho.

Lista de Abreviaturas

- A- área superficial da amostra
- Abs- absorvância
- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ANOVA- análise de variância
- ASC- área sob a curva
- CIVIV- correlação *in vivo-in vitro*
- CLAE- cromatografia líquida de alta eficiência
- $C_{m\acute{a}x}$ - concentração máxima alcançada
- C_s - concentração de saturação do fármaco na solução
- C_t - concentração do fármaco no seio do solvente no tempo t
- DCB- denominação comum brasileira
- dC/dt- taxa de dissolução do fármaco em função do tempo
- DCI- denominação comum internacional
- dp- desvio padrão
- DPR- desvio padrão relativo
- HCTZ- hidroclorotiazida
- j*- velocidade ou taxa de dissolução intrínseca
- TMD- tempo médio de dissolução (*mean dissolution time*)
- pm- peso médio
- SE- solução estoque
- SNK- Student-Neuman-Keuls
- $T_{m\acute{a}x}$ - tempo no qual $C_{m\acute{a}x}$ é alcançada
- UV- ultravioleta
- V- volume do meio de dissolução

Sumário

INTRODUÇÃO	1
1. Dissolução de formas farmacêuticas sólidas	2
1.1 Teoria da dissolução	3
1.2 Fatores que influenciam a dissolução	5
1.3 Objetivos do ensaio de dissolução	6
1.4 Características do ensaio de dissolução	7
2. Biodisponibilidade	10
2.1 Fatores que alteram a biodisponibilidade	12
2.2 Métodos para acessar a biodisponibilidade	13
3. Correlação <i>in vivo-in vitro</i>	15
4. Sistema de classificação biofarmacêutica	17
5. Dissolução intrínseca	18
5.1 Teoria da dissolução intrínseca	21
5.2 Dispositivo utilizado para determinação da dissolução intrínseca em disco	22
5.3 Fatores que influenciam a velocidade de dissolução intrínseca	24
6. Hidroclorotiazida	25
6.1 Propriedades físico-químicas	25
6.2 Síntese e relação estrutura/atividade	26
6.3 Propriedades farmacológicas e mecanismo de ação	27
6.4 Propriedades farmacocinéticas	28
6.5 Formas farmacêuticas e apresentação	28
6.6 Análise quantitativa e controle de qualidade	29
OBJETIVOS	31
1. Objetivos gerais	32
2. Objetivos específicos	32
MATERIAIS E MÉTODOS	33
1. Materiais	34
1.1 Equipamentos e acessórios	34
1.2 Reagentes e materiais de referência	34
1.3 Matérias-primas	35
1.4 Produtos farmacêuticos	36

2. Métodos	37
2.1 Análise quantitativa de hidroclorotiazida por espectrofotometria UV	37
2.1.1 Preparo das soluções-estoque de HCTZ	37
2.1.2 Curvas padrão	37
2.1.3 Cálculos	38
2.1.4 Espectro de absorção	38
2.2 Determinação do pH dos meios	38
2.3 Determinação da distribuição granulométrica das matérias-primas R, A, F, SF e VF por difração a laser	39
2.3.1 Descrição da metodologia e do equipamento	39
2.3.2 Preparo do meio de dispersão	40
2.3.3 Procedimento	40
2.4 Determinação da solubilidade da HCTZ	41
2.4.1. Procedimento	41
2.4.2 Cálculos	41
2.5 Determinação da velocidade de dissolução intrínseca em disco das matérias-primas R, A e VF conforme descrito na USP 27 (2004).	42
2.5.1 Dispositivo	42
2.5.2 Preparo da pastilha	42
2.5.3 Montagem do dispositivo	42
2.5.4 Tempo de ensaio e coleta da amostras	43
2.5.5 Quantificação da HCTZ dissolvida	43
2.6 Determinação da velocidade de dissolução intrínseca das matérias-primas R, A e VF utilizando-se o dispositivo modificado	43
2.6.1 Preparo da pastilha	43
2.6.2 Procedimento	43
2.6.3 Tempo de ensaio e coleta da amostras	44
2.6.4 Quantificação da HCTZ dissolvida	44
2.7 Determinação da dissolução particulada das matérias-primas R, A, e VF adicionando-se as mesmas diretamente à cuba de dissolução	44
2.7.1 Procedimento	44
2.7.2 Tempo de ensaio e coleta da amostras	44
2.7.3 Quantificação da HCTZ dissolvida	44
2.8 Determinação da dissolução particulada das matérias-primas R, A, e VF utilizando-se membrana de diálise	45

2.8.1	Preparo da membrana	45
2.8.2	Procedimento	45
2.8.3	Tempo de ensaio e coleta da amostras	46
2.8.4	Quantificação da HCTZ dissolvida	46
2.9	Caracterização geral dos produtos A, B, C e D	46
2.9.1	Peso médio e uniformidade de peso	47
2.9.2	Dureza	47
2.9.3	Friabilidade	47
2.9.4	Desintegração	47
2.9.5	Teor de HCTZ	48
2.9.5.1	Preparo da solução padrão	48
2.9.5.2	Preparo da solução amostra	48
2.9.5.3	Ensaio	49
2.9.5.4	Cálculos	49
2.9.6	Uniformidade de dose por conteúdo	50
2.10	Determinação do perfil de dissolução de comprimidos de HCTZ (produtos A, B, C e D)	50
2.10.1	Meios de dissolução	50
2.10.2	Tipo de agitador e velocidade de agitação	51
2.10.3	Procedimento	51
2.10.4	Tempo de ensaio e coleta da amostras	51
2.10.5	Quantificação da HCTZ dissolvida	51
2.10.6	Cálculos	52
RESULTADOS E DISCUSÃO		53
1.	Determinação da distribuição granulométrica das matérias-primas R, A, F, SF e VF por difração a laser	54
2.	Determinação da solubilidade da HCTZ	58
3.	Determinação da velocidade de dissolução intrínseca em disco das matérias-primas R, A e VF conforme descrito na USP 27 (2004)	62
4.	Determinação da velocidade de dissolução intrínseca das matérias-primas R, A e VF utilizando-se o dispositivo modificado	66
5.	Determinação da dissolução particulada das matérias-primas R, A, e VF adicionando-se as mesmas diretamente à cuba de dissolução	70
6.	Determinação da dissolução particulada das matérias-primas R, A, e VF utilizando-se membrana de diálise	75

7. Caracterização geral dos comprimidos de HCTZ	79
7.1 Peso médio e uniformidade de peso	79
7.2 Resistência mecânica: dureza e friabilidade	79
7.3 Desintegração	80
7.4 Teor de HCTZ	81
7.5 Uniformidade de dose por conteúdo	81
8. Determinação do perfil de dissolução de comprimidos de HCTZ (Produtos A, B, C e D)	83
CONCLUSÃO	98
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

Lista de Figuras

Figura 1-	Processos relacionados à liberação do fármaco da forma farmacêutica sólida (adaptado de SHARGEL & YU, 1999 e BROWN, 2004).	1
Figura 2-	Desenho técnico (a) e fotografia (b) do dispositivo para estabelecimento da dissolução intrínseca em disco.	23
Figura 3-	Síntese e estrutura química dos diuréticos tiazídicos e hidrotiazídicos.	26
Figura 4-	Distribuição granulométrica normalizada pela quantidade de partículas em função do diâmetro em μm das matérias-primas R (a) e A (b) analisadas por difração a laser.	55
Figura 5-	Distribuição granulométrica normalizada pela quantidade de partículas em função do diâmetro em μm das matérias-primas F (a), VF (b) e SF (c) analisadas por difração a laser.	56
Figura 6-	Espectro de absorção no UV de HCTZ padrão dissolvida em água (a) e em HCl 0,1N (b).	58
Figura 7-	Comparativo entre a solubilidade das matérias-primas testadas em água e HCl 0,1N.	60
Figura 8-	Gráfico comparativo da quantidade média de HCTZ-R, A e VF dissolvida em água Q (mg/cm^2) empregando-se o dispositivo descrito na USP 27 (2004).	63
Figura 9-	Aprisionamento de bolhas de ar nas superfícies da pastilha do dispositivo de Wood.	66
Figura 10-	Dispositivo para dissolução intrínseca modificado.	67
Figura 11-	Gráfico comparativo da quantidade média de HCTZ-R, A e VF dissolvida em água Q (mg/cm^2) empregando-se o dispositivo modificado.	68

Figura 12-	Adição das matérias-primas diretamente às cubas de dissolução para determinação da dissolução particulada.	70
Figura 13-	HCTZ na superfície do meio logo após a adição às cubas.	71
Figura 14-	Comparativo entre os perfis de dissolução particulada obtidos através da adição das matérias-primas diretamente às cubas de dissolução.	72
Figura 15-	Invólucros de membrana de diálise contendo HCTZ.	75
Figura 16-	Fixação do invólucro de membrana de diálise contendo HCTZ à cesta.	76
Figura 17-	Comparativo entre as velocidades de dissolução particulada obtidas através da adição das matérias-primas às membranas.	77
Figura 18-	Perfil de dissolução dos produtos A e B na em HCl 0,1N empregando cesta a 100 rpm.	84
Figura 19-	Perfil de dissolução dos produtos A e B em água empregando cesta a 100 rpm.	85
Figura 20-	Perfil de dissolução dos produtos A e B em água empregando pá a 50 rpm.	86
Figura 21-	Perfil de dissolução dos produtos C e D em HCl 0,1N empregando cesta a 100 rpm.	87
Figura 22-	Perfil de dissolução dos produtos C e D em HCl 0,1N empregando cesta a 150 rpm.	88
Figura 23-	Perfil de dissolução dos produtos C e D em água empregando pá a 50 rpm.	89
Figura 24-	Comparativos entre o TMD calculado para os Produtos A, B, C e D nas diferentes condições de teste empregadas.	94

Lista de Tabelas

Tabela 1-	Objetivos do ensaio de dissolução ao longo do ciclo de vida do medicamento.	6
Tabela 2-	Fatores que influenciam o ensaio de dissolução.	8
Tabela 3-	Numeração dos dispositivos para ensaio de dissolução conforme USP 27 (2004).	9
Tabela 4-	Classificação biofarmacêutica e expectativa de CIVIV.	18
Tabela 5-	Métodos de dissolução para HCTZ comprimidos conforme USP 27 (2004) e F. BRAS IV (1996).	29
Tabela 6-	Métodos de dissolução descritos na USP 27 (2004) para a HCTZ em associação.	30
Tabela 7-	Volume utilizado e concentração final obtida no preparo das curvas padrão.	37
Tabela 8-	Resumo da distribuição granulométrica obtida para as matérias-primas R, A, F, SF e VF.	57
Tabela 9-	Solubilidade de HCTZ em água e HCl 0,1N a 37°C.	59
Tabela 10-	Quantidade média (n=3) de HCTZ-R, A e VF dissolvida em água, empregando-se o dispositivo para dissolução intrínseca descrito na USP 27 (2004).	62
Tabela 11-	Taxa de dissolução intrínseca (j) obtidas para as matérias-primas HCTZ-R, A e VF empregando-se o dispositivo para dissolução intrínseca descrito na USP 27 (2004).	64
Tabela 12-	Quantidade média (n=3) de HCTZ-R, A e VF dissolvida em água, empregando-se o dispositivo para dissolução modificado.	67

Tabela 13-	Taxa de dissolução intrínseca (j) obtidas para as matérias-primas HCTZ-R, A e VF empregando-se o dispositivo para dissolução intrínseca modificado.	68
Tabela 14-	Quantidade média ($n=3$) de HCTZ-R, A e VF dissolvida em água.	72
Tabela 15-	Velocidades de dissolução particulada em água obtidas para as matérias-primas HCTZ-R, A e VF através da adição das mesmas diretamente às cubas de dissolução.	73
Tabela 16-	Equações logarítmicas calculadas para a dissolução particulada em água das matérias-primas HCTZ-R, A e VF através da adição destas às cubas de dissolução.	74
Tabela 17-	Quantidade média ($n=3$) de HCTZ-R, A e VF dissolvida em água.	76
Tabela 18-	Velocidades de dissolução obtidas para as matérias-primas HCTZ-R, A e VF empregando-se membrana de diálise.	78
Tabela 19-	Peso médio e valores mínimo e máximo encontrados nas amostras dos comprimidos de HCTZ.	79
Tabela 20-	Resultado dos ensaios de dureza e friabilidade.	80
Tabela 21-	Resultado do ensaio de desintegração.	80
Tabela 22-	Resultados do ensaio de uniformidade de dose por conteúdo e de teor, expressos em porcentual em relação à quantidade declarada.	82
Tabela 23-	Fatores f_1 e f_2 calculados para as formulações analisadas, nas diferentes condições de ensaio testadas.	92
Tabela 24-	TMD calculado para as formulações analisadas, nas diferentes condições de ensaio.	93
Tabela 25-	Razões entre o TMD das formulações analisadas, nas diferentes condições de ensaio.	94

Resumo

Sabe-se que as características físico-químicas dos fármacos podem influenciar a liberação dos mesmos a partir de formas farmacêuticas. Com o crescente número de genéricos disponíveis no mercado e outros tantos em fase de registro, desde a promulgação da Lei nº 9.787 que os regularizou em 1999, torna-se de fundamental importância avaliar profundamente os fármacos disponíveis, que podem vir a ser utilizados nestas formulações, para se evitar diferenças na absorção e eficácia entre medicamentos.

Mundialmente, fabricantes e agências regulatórias recorrem a testes farmacopeicos para assegurar a qualidade de fármacos e medicamentos. Porém, existe um grande número de pesquisas que contestam a capacidade dos métodos farmacopeicos em serem totalmente suficientes para a verificação da qualidade de ativos e produtos.

No presente trabalho foi realizada a dissolução intrínseca em disco e particulada de hidroclorotiazida (HCTZ) de diferentes granulometrias e a avaliação de formulações contendo-as, utilizando como modelo de dissolução de HCTZ, a partir de comprimidos de liberação imediata, os medicamentos referência e genérico, por serem considerados bioequivalentes.

Em relação à dissolução intrínseca das matérias-primas, pôde-se constatar que o ensaio em disco não é capaz de evidenciar diferenças na velocidade de dissolução de matérias-primas que se distinguem apenas pela distribuição granulométrica. Por outro lado, a dissolução particulada, através da adição do fármaco diretamente às cubas de dissolução, mostrou ser a melhor metodologia para previsão de potenciais problemas formulativos, na etapa de avaliação dos ativos.

Em relação à dissolução de comprimidos, verificou-se que os métodos descritos nas Farmacopéias Brasileira e Americana para dissolução de comprimidos de liberação imediata de HCTZ não são capazes de distinguir os produtos fabricados com hidroclorotiazida de diferente granulometria, uma vez que as formulações testadas são aprovadas de acordo com o critério simples de avaliação farmacopeico, embora apresentem perfis de dissolução distintos, evidenciados quando se calcula os fatores f_1 e f_2 e o tempo médio de dissolução (TMD). Na tentativa de ressaltar a diferença existente entre os perfis, foram utilizadas condições de ensaio mais discriminantes. Neste caso, foi verificado que o produto formulado com HCTZ de maior granulometria liberou menos que 50% do seu valor declarado, ao final de uma hora de ensaio, enquanto o medicamento referência, o genérico e o produto fabricado com HCTZ de menor granulometria liberaram mais de 90% no mesmo tempo.

Verificou-se que matérias-primas de menor velocidade de dissolução, em função de uma maior granulometria, geram produtos com maior TMD quando utilizadas em sua fabricação, o que pode comprometer a cinética de dissolução *in vitro* e *in vivo* destes produtos e, em último grau, sua biodisponibilidade.

Abstract

Drug substance characteristics can influence the release of it from pharmaceutical forms. Considering the increasing number of generic products available in the market and many others in register phase, since the promulgation of the law that regularized them in Brazil in 1999, it become of basic importance to deeply evaluate the drug substances, which can be used in these formulations, to prevent differences in the absorption and effectiveness between medicines.

World-wide, manufacturers and health authorities use compendial tests to assure the quality of drug substances and medicines. However, a large number of research contests the capacity of compendial methods in being sufficiently able to testify drug substances and products quality.

In the present work, the disk and particulate intrinsic dissolution was carried out for hydrochlorothiazide (HCTZ) of different particle size and the evaluation of formulations manufactured with them was performed. The reference product and its generic were used as a model of dissolution of HCTZ from immediate release tablets, since they can be considered bioequivalents.

In relation to the disk intrinsic dissolution of raw materials, it was verified that this assay is not capable to evidence differences in the dissolution rate of raw materials, which differ only in particle size distribution. On the other hand, the particulate dissolution, determined by the addition of drug substance in powder directly to dissolution vessels, showed to be the best methodology for forecast potential formulation problems.

In relation to the tablet dissolution, it was verified that the methods described in the Brazilian and American Pharmacopoeias for dissolution of HCTZ immediate release tablets are not capable to distinguish between products manufactured with HCTZ from different particle size, once the products evaluated are approved by the single point criteria evaluation, although presenting distinct profiles, that are evidenced when factors f_1 and f_2 and mean dissolution time (MDT) are calculated. In the attempt to stand out the existing difference between dissolution profiles, smooth assay conditions had been used. In this case, it was verified that the product formulated with HCTZ of bigger particle size released less than 50% of its declared content in one hour, while the reference product, the generic and the product manufactured with HCTZ of smaller particle size released more than 90% in the same time.

It was verified that raw materials of small dissolution rate, in function of a bigger particle size, generate products with bigger MDT, what can compromise the dissolution kinetic of these products and, in last degree, its bioavailability.

1. Dissolução de formas farmacêuticas sólidas

Em sistemas biológicos, a dissolução de medicamentos pode ser definida como o fenômeno em que um fármaco no estado sólido se libera da forma farmacêutica de administração e se solubiliza. Portanto, a dissolução é uma importante condição para absorção sistêmica do fármaco, podendo afetar a biodisponibilidade do mesmo. O ensaio de dissolução *in vitro* mede a velocidade e a extensão de liberação do ativo no meio avaliado (ABDOU, 1995; STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995).

A Figura 1 ilustra os processos relacionados à liberação do fármaco de formas farmacêuticas sólidas, onde K_{dd} representa a taxa de desintegração da formulação e K_{di} , a taxa de dissolução intrínseca do fármaco. Pode-se constatar que quando K_{dd} é maior que K_{di} , a dissolução é controlada pela dissolução intrínseca dos ativos, sendo suas propriedades físico-químicas consideradas importantes, conforme será discutido adiante. Já quando K_{dd} é menor que K_{di} , a dissolução é controlada pela desintegração, sendo esta influenciada pelas propriedades coesivas da formulação (BROWN, 2004).

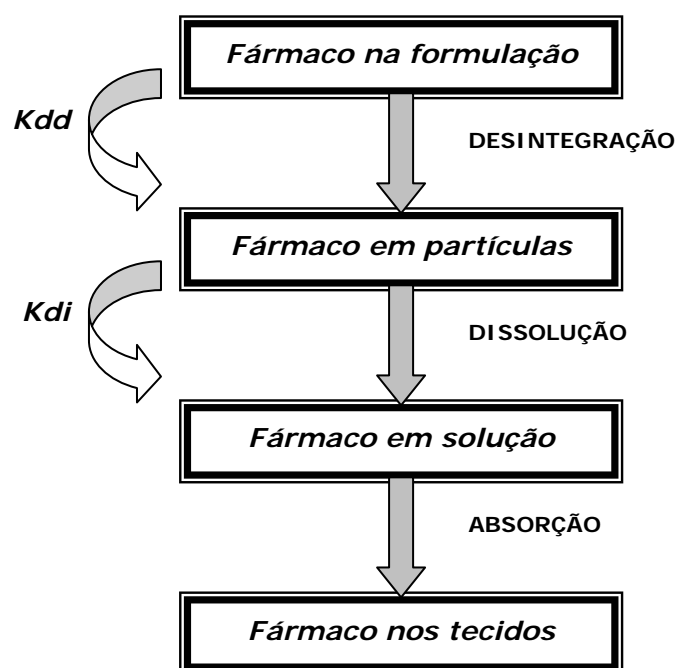


Figura 1- Processos relacionados à liberação do fármaco da forma farmacêutica sólida (adaptado de SHARGEL & YU, 1999 e BROWN, 2004).

A taxa na qual fármacos com baixa solubilidade em água se dissolvem a partir da forma farmacêutica, intacta ou desintegrada, no trato gastrointestinal, geralmente é limitante para a absorção sistêmica dos mesmos. Portanto, a dissolução de ativos fracamente solúveis a partir de formas farmacêuticas de liberação imediata possui muitos desafios. Estes incluem o desenvolvimento e a validação da metodologia de teste, assegurando que o teste é apropriadamente discriminatório e que possui potencial correlação *in vivo-in vitro* (BROWN, 2004).

1.1. Teoria da dissolução

A taxa de dissolução foi primeiramente descrita pela notória equação de Noyes e Whitney, desenvolvida com base na segunda lei de Fick em 1897, conforme abaixo:

$$\frac{dC}{dt} = K \cdot (C_s - C_t) \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

dC/dt = taxa de dissolução do fármaco em função do tempo

K = constante intrínseca de dissolução

C_s = concentração de saturação do fármaco na solução

C_t = concentração do fármaco no seio do solvente no tempo t

$C_s - C_t$ = gradiente de concentração

Posteriormente em 1900, Brunner e Tolloczko modificaram a Equação 1, incluindo a área superficial do fármaco, A , diretamente relacionada à velocidade de dissolução, conforme abaixo:

$$\frac{dC}{dt} = K \cdot A \cdot (C_s - C_t) \quad (\text{Equação 2})$$

Anos mais tarde, em 1904, Nernst propôs a teoria da difusão em camada, onde as etapas do processo de liberação da substância ativa a partir da forma farmacêutica incluem, a dissolução do fármaco na superfície da partícula sólida e a formação de uma solução saturada ao nível de interface sólido-líquido. O fármaco dissolvido na solução saturada, conhecida como camada estagnante, se difunde para o seio do solvente, de regiões com maior concentração para regiões com menor concentração do fármaco. Esta etapa é considerada como fator limitante uma vez que a difusão é um processo lento.

Sendo assim, neste mesmo ano, Brunner ampliou a Equação 2, incluindo o coeficiente de difusão, D , a espessura da camada estagnante, h , e o volume do meio de dissolução, V , resultando na Equação 3 descrita abaixo (ABDOU, 1995; SHARGEL & YU, 1999):

$$\frac{dC}{dt} = K \cdot \frac{D \cdot S}{V \cdot h} \cdot (C_s - C_t) \quad (\text{Equação 3})$$

1.2 Fatores que influenciam a dissolução

A Equação 3 demonstra que a dissolução é influenciada pelas características físico-químicas da substância ativa, pelo solvente e pela formulação, englobando a natureza dos excipientes e o processo produtivo. Contudo, em relação à disponibilidade do fármaco no organismo, particularmente do trato gastrintestinal, fatores como a permeabilidade através da membrana do epitélio e o coeficiente de partição (P) também irão afetar a capacidade do fármaco em ser absorvido (SHARGEL & YU, 1999).

A dissolução de medicamentos envolve pelo menos dois passos consecutivos: liberação do soluto da matriz e solubilização das partículas do ativo no meio. As propriedades coesivas da formulação representam um importante papel na primeira etapa da dissolução. Para as formas de dosagem sólidas essas propriedades incluem a desintegração, a erosão e a desagregação (BROWN, 2004).

Com relação aos fatores que afetam a dissolução, envolvendo a formulação, têm-se: dureza dos comprimidos, adição de desintegrantes, lubrificantes e tensoativos, adição de ácidos ou bases com o intuito de alterar o pH do meio de dissolução do fármaco ou de reagir com o mesmo, utilização de revestimento e formação de complexos fármaco-excipiente (SHARGEL & YU, 1999).

Na fase de solubilização das partículas do ativo, as propriedades físico-químicas do soluto como, forma química (sal, ácido livre, base livre) e forma física (amorfos, polimorfos, tamanho de partícula primário) representam um importante papel para a dissolução. Se essa fase é limitante, a velocidade de dissolução é controlada pela dissolução intrínseca do fármaco, como é o caso da maior parte dos ativos pouco solúveis administrados em formulações de liberação imediata (BROWN, 2004).

1.3 Objetivos do ensaio de dissolução

Os objetivos do ensaio de dissolução variam durante o ciclo de vida do medicamento, conforme descrito na Tabela 1 (BROWN, 2004).

Tabela 1- Objetivos do ensaio de dissolução ao longo do ciclo de vida do medicamento.

Fases	Objetivo do ensaio de dissolução
0 e I	Desenvolvimento de um método que claramente estabeleça os mecanismos de liberação <i>in vitro</i> e de solubilização do ativo.
II e III	Identificar um ensaio que possa prover potencial correlação <i>in vivo-in vitro</i> ou outra informação biorrelevante.
Durante e após o registro	Assegurar a consistência lote a lote do produto e do processo de fabricação e avaliar a estabilidade do mesmo durante o prazo de validade.
Mudanças pós-registro	Prever como uma nova formulação agirá <i>in vivo</i> . Submissão às autoridades sanitárias (uso da dissolução para dispensa de estudos <i>in vivo</i>).

Fonte: BROWN, 2004.

O desenvolvimento de método discriminatório, com sensibilidade às variáveis que afetam a velocidade de dissolução, é de fundamental importância. Idealmente, o ensaio de dissolução deveria discriminar mudanças que afetariam a performance biofarmacêutica do produto. Contudo, a menos que exista uma correlação *in vivo-in vitro* consistente, variações no comportamento da dissolução podem não refletir variações do desempenho do produto *in vivo*, conforme será discutido adiante (BROWN, 2004).

1.4 Características do ensaio de dissolução

O teste de dissolução *in vitro* se propõe a quantificar e a avaliar a taxa e a extensão da dissolução, sendo seu resultado expresso em porcentagem do fármaco declarada dissolvida, num certo período de tempo. Quando existe uma correlação com a biodisponibilidade *in vivo*, esta poderia ser acessada através do ensaio de dissolução *in vitro*.

Com intuito de obter esta correlação, o desenvolvimento de uma metodologia de dissolução envolve a seleção de parâmetros como a característica e volume do meio de dissolução, pH, velocidade de agitação e utilização de equipamento específico, além de um ensaio adequado e validado para a quantificação.

O volume do meio de dissolução empregado deveria ser capaz de manter a condição *sink*, que preconiza a utilização de um volume não inferior a 3 vezes o necessário para formar uma solução saturada do fármaco. Isto se faz necessário, visto que, um excesso de meio permite que o fármaco se dissolva continuamente.

A temperatura do meio deve ser controlada, pois um aumento de temperatura gera uma maior taxa de dissolução, por aumentar a solubilidade da grande maioria dos solutos. A maior parte dos testes de dissolução é conduzida à $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Na prática este parâmetro não é alterado com o intuito de otimizar a correlação *in vivo-in vitro*.

A presença de gases dissolvidos no meio, a tensão superficial, a evaporação do meio, a vibração externa e a calibração do equipamento são outros fatores que interferem no ensaio de dissolução, sendo, portanto passíveis de observação (F. BRAS. IV, 1988; CONCHA, 1992; ABDU, 1995; SHARGEL & YU, 1999; USP 27, 2004).

Alguns dos fatores que influenciam o ensaio de dissolução *in vitro* estão sumarizados na Tabela 2:

Tabela 2- Fatores que influenciam o ensaio de dissolução.

Fator	Comentário
Meio de dissolução empregado	Volume, pH fisiologicamente relevante, utilização de enzimas e tensoativos, presença de gases dissolvidos.
Temperatura	Alteração da solubilidade do ativo e do volume do meio através da evaporação. Temperatura preconizada: $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.
Velocidade e tipo de agitação	Alteração da hidrodinâmica do meio de dissolução. Influência direta na velocidade de dissolução por diminuir a espessura, <i>h</i> , da camada estagnante.
Qualificação do equipamento	Operacional: verificação da excentricidade e alinhamento do agitador e das hastes, entre outros parâmetros. Performance: utilização de comprimidos calibradores desintegrantes (prednisona 10 mg em lactose) e não-desintegrantes (ácido salicílico 300 mg). Os limites de aceitação são fixados para cada lote, de acordo com os valores encontrados em estudo interlaboratorial.

Fonte: CONCHA, 1992; ABDOU, 1995; SHARGEL & YU, 1999; USP 27, 2004.

Em 1970, a USP 18 apresentou o primeiro método oficial para avaliação da dissolução de comprimidos, que indicava o uso da cesta rotatória e publicou 12 monografias que contemplavam a utilização desta metodologia. Com o intuito de padronizar os testes de dissolução e assim conseguir uma maior reprodutibilidade entre os ensaios realizados em diversos países, o FDA publicou em 1978 as Diretrizes para Testes de Dissolução. Nos anos 80, foi adotada pela USP a nomenclatura numérica para os dispositivos disponíveis até então, além da oficialização do teste de dissolução no Brasil (F. BRAS. IV, 1996) e no Reino Unido (BP, 1988). Em 1995, a Farmacopéia Americana (USP 23), apresentou dois dispositivos para ensaios em formas de liberação

prolongada e numerou os dispositivos existentes. Essa numeração mantém-se até hoje descrita na USP 27 (2004), conforme Tabela 3:

Tabela 3- Numeração dos dispositivos para ensaio de dissolução conforme USP 27 (2004).

Numeração (<i>Apparatus</i>)	Sinonímia
1	Cesta rotatória
2	Pá rotatória
3	Cilindros alternantes
4	Célula de fluxo
5	Pá rotatória sobre disco
6	Cilindro rotatório
7	Disco alternante

Cada dispositivo possui dimensões específicas e particularidades que são úteis no desenvolvimento de métodos que melhor mimetizem as condições *in vivo*, dependendo da forma de dosagem e do tipo de liberação. Os dispositivos 1 e 2 são utilizados principalmente para testes em formas de liberação imediata. O dispositivo 3 é particularmente empregado para formas de liberação lenta e estudos de perfil de dissolução dependentes da variação de pH. O dispositivo 4 é utilizado para fármacos com solubilidade em água muito pequena ou com rápida degradação e quando há necessidade de alteração do pH do meio. O dispositivo 5 pode ser utilizado em ensaios de dissolução de adesivos transdérmicos, pomadas, emulsões e formas que flutuam, como alguns comprimidos e cápsulas. O dispositivo 6 é utilizado na análise da dissolução de adesivos transdérmicos. O dispositivo 7 também pode ser usado na dissolução dos últimos, além de formas sólidas, estudos de pH e quando se requer pequeno volume de meio (SIEWERT, 2003; USP 27, 2004).

A parte prática do ensaio de dissolução que envolve a calibração e a utilização do dispositivo adequado, embora complexa e repleta de particularidades que devem ser observadas para o sucesso do teste, está bastante consolidada e difundida para a análise de comprimidos e cápsulas de uso oral. Os futuros desafios do teste de dissolução, inclusive com a elaboração de equipamentos mais específicos, estão baseados em obter dados de dissolução para outras formas de dosagem como adesivos transdérmicos, sprays para inalação, suspensões, supositórios, emulsões e hidrogéis contendo antígenos (SIEWERT, 2003).

2. Biodisponibilidade

O termo biodisponibilidade é uma contração de disponibilidade biológica. Considera-se biodisponibilidade como sendo a taxa e extensão na qual uma molécula ativa é absorvida e torna-se disponível no sítio de ação. Considerando-se que a quantidade do fármaco contida no fluido biológico está em equilíbrio com o sítio de ação, a biodisponibilidade é determinada através da medida da concentração da substância ativa em sangue total, plasma ou outro fluido biológico apropriado, em função do tempo.

Os parâmetros farmacocinéticos são obtidos diretamente das curvas de concentração do fármaco no plasma ou soro versus o tempo, construídas no estudo de biodisponibilidade. Os principais parâmetros farmacocinéticos utilizados para a avaliação da biodisponibilidade são:

- $C_{m\acute{a}x}$: concentração máxima do fármaco atingida no plasma;
- $T_{m\acute{a}x}$: tempo no qual $C_{m\acute{a}x}$ é alcançada;
- ASC: área sob a curva de concentração plasmática do fármaco em função do tempo.

A avaliação da biodisponibilidade é dividida em dois tipos, sendo estes:

- Biodisponibilidade absoluta: fração da dose que é efetivamente absorvida após administração extravascular de um medicamento. É calculada tendo como referência a administração do mesmo fármaco por via intravascular, que possui por definição biodisponibilidade igual a 100%.
- Biodisponibilidade relativa ou bioequivalência: ocorre entre medicamentos administrados pela mesma via extravascular, podendo ser avaliada pela comparação de parâmetros farmacocinéticos relacionados à biodisponibilidade, ou seja, a quantidade absorvida e a velocidade do processo de absorção. Comparam-se dois medicamentos, tendo um deles como referência.

Medicamento de referência é definido como medicamento inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro (BRASIL, Lei nº 9.787, 1999).

Medicamentos bioequivalentes são equivalentes farmacêuticos (mesma forma farmacêutica e dosagem da substância ativa) que, ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação à biodisponibilidade (JACKSON, 1994; BRASIL, Lei nº 9.787, 1999).

Medicamento genérico é um medicamento similar a um produto de referência, que pretende ser com este intercambiável decorrente de sua bioequivalência em relação ao mesmo, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade e designado pela denominação comum brasileira (DCB) ou, na sua ausência, pela denominação comum internacional (DCI) (BRASIL, Lei nº 9.787, 1999).

Os estudos de biodisponibilidade são requeridos nas seguintes situações: estudos de bioequivalência de medicamentos, estabelecimento de correlação *in vivo-in vitro*, registro de medicamentos que contenham novos fármacos, de novas formulações envolvendo fármacos já utilizados na terapêutica e de formas farmacêuticas de liberação controlada e alterações pós-registro de nível 3 (CDER/FDA, 1995; ANVISA, Resolução RE nº 482, 2002).

2.1 Fatores que alteram a biodisponibilidade

Os fatores que alteram a biodisponibilidade de medicamentos relacionados à forma farmacêutica são dependentes do fármaco, dos excipientes ou do processo de fabricação (STORPIRTIS, 1995), conforme abaixo:

- Dependente do fármaco: tamanho de partículas, polimorfismo, pKa, coeficiente de partição óleo/água.
- Dependente dos excipientes: natureza química, capacidade de absorção, quantidade empregada na formulação.
- Dependente do processo de fabricação: tipo de granulação utilizada, modificações nas técnicas de produção (tempo de mistura ou secagem), força de compressão.

Nos últimos anos, tem-se dado grande importância à cinética de dissolução de formas farmacêuticas sólidas, relacionando-se este processo com a biodisponibilidade de fármacos no organismo. Esta relação é fundamental e indispensável, principalmente, para fármacos com baixa solubilidade em água, onde a existência de potenciais problemas formulativos e tecnológicos podem resultar em relevante alteração da biodisponibilidade. Assim torna-se importante controlar a dissolução dos fármacos a partir de formas farmacêuticas sólidas de modo a assegurar a biodisponibilidade e promover homogeneidade inter-lotes (BROWN, 2004).

2.2 Métodos para acessar a biodisponibilidade:

Métodos diretos e indiretos podem ser usados para acessar a biodisponibilidade de um fármaco. O desenho do estudo de biodisponibilidade depende dos seus objetivos, da capacidade em analisar o fármaco e seus metabólitos no fluido biológico, da farmacodinâmica da substância, da via de administração e da natureza do medicamento. Sendo assim a biodisponibilidade pode ser obtida a partir de:

- Parâmetros farmacocinéticos → a medida da concentração do fármaco no fluido biológico é o mais direto e objetivo dado para determinar a biodisponibilidade. Através de uma amostragem apropriada do sangue, uma descrição precisa da concentração do fármaco no plasma versus o tempo, pode ser obtida, utilizando-se um método analítico de quantificação validado. Os parâmetros confrontados, conforme descrito anteriormente, são: ASC, $C_{máx}$ e $T_{máx}$.
- Dados de excreção urinária do fármaco → é um método indireto para estimar a biodisponibilidade. O fármaco deve ser excretado em quantidades significantes, na forma inalterada, na urina. Várias amostras da urina através do tempo são coletadas e o total da excreção do fármaco pode ser obtido. Os parâmetros avaliados são: quantidade cumulativa do fármaco excretada na urina (D_u), taxa de excreção do fármaco na urina (dD_u/dt) e tempo obtido para o máximo de excreção urinária (t).
- Efeitos farmacodinâmicos agudos → em alguns casos a medida quantitativa do fármaco não está acessível, ou não há suficiente precisão e exatidão nos métodos desenvolvidos. Um efeito farmacodinâmico agudo, como diâmetro pupilar, pressão arterial, batimentos cardíacos e outros podem ser usados como um indicador da biodisponibilidade. As medidas do efeito

farmacodinâmico devem ser feitos com uma frequência suficiente para permitir uma estimativa razoável da área sob a curva por um período de pelo menos três vezes a meia-vida do fármaco. Os parâmetros avaliados são: efeito farmacodinâmico máximo ($E_{máx}$), área sob a curva de efeito farmacodinâmico versus o tempo e tempo necessário para o início do efeito. Na atualidade, raríssimos são os fármacos que não possuem meios de se quantificar, graças aos constantes avanços da instrumental analítica, e, portanto, este método praticamente não é utilizado.

- Observações clínicas → ensaios clínicos controlados com estabelecimento de pontuações, são realizados para assegurar a segurança e efetividade de um medicamento. É o menos preciso, reprodutível e sensível método para determinar a biodisponibilidade *in vivo*. O FDA apenas considera este método na ausência de meios para se testar os anteriormente descritos. Um exemplo é a avaliação da bioequivalência de duas pomadas para uso tópico de diferentes fabricantes contendo o mesmo agente antifúngico.
- Estudo *in vitro* → idealmente, se há uma forte correlação entre a dissolução de um fármaco e sua biodisponibilidade, então a comparação dos dados de dissolução entre um medicamento teste e um de referência deveriam ser suficientes para demonstrar a bioequivalência. O FDA requer para formas sólidas orais, a bioequivalência *in vivo* para a que contém a maior dosagem e para a menor, podendo ser realizada apenas a comparação entre os resultados de dissolução do medicamento teste e do de referência (SHARGEL & YU, 1999).

3. Correlação *in vivo-in vitro* (CIVIV)

A correlação *in vivo-in vitro* refere-se ao estabelecimento de uma relação racional entre uma propriedade ou efeito biológico produzido por um fármaco, administrado em uma determinada forma farmacêutica, e uma propriedade ou característica físico-química dessa mesma formulação. As propriedades biológicas normalmente empregadas são um ou mais parâmetros farmacocinéticos, como $C_{máx}$ (concentração máxima do fármaco atingida no plasma), ASC (área sob a curva de concentração plasmática do fármaco em função do tempo) e $T_{máx}$ (tempo no qual $C_{máx}$ é alcançada), obtidos após a administração da forma farmacêutica aos indivíduos participantes do ensaio de biodisponibilidade. Por sua vez, a propriedade físico-química mais utilizada refere-se à cinética de dissolução *in vitro* da forma farmacêutica, que irá fornecer dados sobre a porcentagem de fármaco dissolvido no meio, em relação ao declarado, em função do tempo (RAMANA, 2000).

Assim, objetiva-se estabelecer uma relação entre as duas propriedades, biológica e físico-química, que possa ser expressa quantitativamente. Caso esta ocorra, os dados obtidos *in vitro* poderão ser empregados na predição do comportamento da formulação no organismo (RAMANA, 2000; ANVISA, Resolução RE nº 482, 2002; USP 27, 2004).

Além disso, uma correlação *in vivo-in vitro* consistente pode tornar o ensaio de dissolução, um substituto do ensaio de bioequivalência, requerido para alterações pós-registro e assim reduzir o tempo e o custo no desenvolvimento de novas formulações (CDER/FDA, 1995).

A absorção sistêmica de um fármaco consiste numa sucessão de etapas. Para uma forma sólida, como um comprimido, o processo inclui a desintegração do produto, a dissolução do fármaco em um meio aquoso e a absorção através das membranas celulares até atingir a circulação sistêmica. A taxa de absorção será determinada pela etapa mais lenta deste processo e, portanto limitante para a absorção. Para um fármaco

com baixa solubilidade em água, a taxa na qual o fármaco se dissolve é a mais lenta, e, portanto, a dissolução é a etapa limitante. De forma contrária, para um fármaco com alta solubilidade em água, a dissolução é a etapa mais rápida e a taxa na qual o fármaco atravessa ou permeia as membranas celulares é a etapa limitante. Sendo assim, devido à estas variações, é necessário estabelecer o ensaio de dissolução que melhor mimetize a absorção sistêmica do fármaco, o que só é conseguido quando se compara valores obtidos em testes clínicos com os obtidos experimentalmente em condições pré-estabelecidas (SHARGEL & YU, 1999).

As CIVIVs são divididas em quatro níveis, segundo as diretrizes do FDA, de acordo com a habilidade da correlação em refletir a curva de concentração plasmática do fármaco em função do tempo, resultante da administração da forma farmacêutica. Sendo estes:

- Nível A: corresponde ao grau mais elevado de correlação e representa a relação ponto a ponto entre a dissolução *in vitro* e a absorção do fármaco *in vivo*. O cálculo da fração absorvida do fármaco pode ser obtido pela aplicação de modelos compartimentais farmacocinéticos (Wagner-Nelson ou Loo-Riegelman) ou por deconvolução matemática (USP 27, 2004).
- Nível B: fundamentada na análise de momentos estatísticos, os quais representam um grupo de parâmetros de curvas que permitem correlações gerais e diretas entre funções temporais. As funções temporais biofarmacêuticas referem-se ao tempo médio de dissolução do fármaco *in vitro*, tempo médio de dissolução do fármaco *in vivo* e ao tempo médio de residência do fármaco *in vivo*, no compartimento onde se determina sua concentração. Apesar de usar todos os dados obtidos *in vivo* e *in vitro* não é considerada uma correlação ponto a ponto (USP 27, 2004).

- Nível C: relaciona um determinado parâmetro de dissolução à um determinado parâmetro farmacocinético. Este nível de correlação não reflete a forma da curva obtida *in vivo* em relação ao perfil de dissolução *in vitro*. Essa correlação é útil apenas como um guia no desenvolvimento de formulações ou como um procedimento de controle de qualidade da produção (USP 27, 2004).
- Nível C Múltiplo: relaciona um ou vários parâmetros farmacocinéticos de interesse à quantidade de fármaco dissolvida em vários pontos do perfil de dissolução (RAMANA, 2000).

4. Sistema de classificação biofarmacêutica

Amidon e colaboradores (1995) categorizaram as substâncias farmacêuticas em quatro grupos de acordo com suas propriedades de solubilidade e permeabilidade. A classificação biofarmacêutica pretende correlacionar a dissolução *in vitro* e a biodisponibilidade *in vivo*. O conhecimento da solubilidade e permeabilidade gastrointestinal dos fármacos se torna de grande valia, uma vez que estes parâmetros controlam a taxa e a extensão da absorção. Esta classificação assume que nenhum outro componente da formulação altere a permeabilidade de membrana ou o trânsito intestinal (AMIDON, 1995).

As classes biofarmacêuticas propostas e a expectativa de correlação *in vivo-in vitro* (CIVIV) para medicamentos de liberação imediata estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4- Classificação biofarmacêutica e expectativa de CIVIV

Classe	Solubilidade	Permeabilidade	Expectativa de CIVIV
I	alta	alta	CIVIV esperada se a velocidade de dissolução for mais lenta que a de esvaziamento gástrico, caso contrário, limitada ou nenhuma correlação.
II	baixa	alta	CIVIV esperada se a velocidade de dissolução <i>in vitro</i> for similar a velocidade de dissolução <i>in vivo</i> , a menos que a dose seja alta.
III	alta	baixa	A absorção (permeabilidade) é determinante. Espera-se limitada ou nenhuma correlação.
IV	baixa	baixa	Espera-se limitada ou nenhuma correlação.

Fonte: YU, 2004.

De acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica, a solubilidade de determinado fármaco é considerada alta quando a maior dose empregada é solúvel em até 250 mL de um meio aquoso numa faixa de pH fisiologicamente relevante (de 1 a 7,5). Portanto, pode haver divergência entre a classificação físico-química de solubilidade de determinado material considerado não solúvel, mas que em relação à categorização de solubilidade da classificação biofarmacêutica, onde a dose administrada é considerada, o mesmo seja classificado como de alta solubilidade (YU, 2004).

5. Dissolução intrínseca

Uma vez que fatores relacionados ao fármaco, como tamanho de partícula e sua distribuição, higroscopicidade, cristalinidade, amorfismo, polimorfismo, pka, coeficiente de partição e solubilidade, podem afetar a cinética de dissolução e a biodisponibilidade de formas farmacêuticas, o conhecimento da dissolução do fármaco torna-se uma importante ferramenta na pesquisa, desenvolvimento de produtos e controle de qualidade de fármacos (USP 27, 2004).

A avaliação da dissolução intrínseca é um meio de demonstrar a pureza química e a equivalência de fármacos, por exemplo, provenientes de diferentes fabricantes. A necessidade de se demonstrar a similaridade entre ativos se baseia no fato que diferenças na cristalização, tamanho de partículas e área superficial podem gerar lotes, de um mesmo produto farmacêutico, com biodisponibilidade diferente acarretando prejuízos no tratamento e risco aos pacientes, principalmente quando considerados os fármacos com baixo índice terapêutico. Portanto, idealmente, para cada medicamento, um tipo de fármaco, com características físico-químicas definidas, se adapta melhor a formulação, fornecendo resultados *in vivo* e *in vitro* consistentes em relação ao produto inicialmente desenvolvido (VIEGAS, 2003; YU, 2004).

Além dos aspectos biofarmacêuticos, o tamanho de partícula, afeta a questão tecnológica. Com a utilização de materiais finos espera-se uma distribuição mais uniforme destes na formulação. Além de influenciar a eficiência da mistura, o tamanho e o formato das partículas, altera o fluxo e a densidade da formulação, e conseqüentemente, a etapa de compressão. Algumas vezes, a utilização de um material muito fino, torna difícil a sua manipulação, pois por apresentar-se mais agregado, este se adere com facilidade aos recipientes, o que ocasiona perdas de processos e baixos teores. Pode-se considerar ainda que, materiais de tamanho de partícula reduzido, afetam a estabilidade da formulação, pois se espera uma maior interação destes com os excipientes. Com base no exposto, torna-se necessário, durante a fase de desenvolvimento de uma formulação, definir a faixa desejável para o tamanho de partícula das matérias-primas e instituir o controle da mesma nas aquisições subseqüentes (LIEBERMAN, 1980; ANSEL, 2000).

O método usualmente utilizado para se determinar essa característica é conhecido como dissolução intrínseca em disco. Esta é definida como a taxa de dissolução de uma substância pura obtida em condições específicas, onde parâmetros como área superficial, temperatura, velocidade de agitação, pH e força iônica do meio de dissolução são

mantidos constantes. A massa dissolvida por unidade de tempo, considerando uma área superficial exposta fixa, é expressa em $\text{mg}/\text{min}/\text{cm}^2$ (PELTONEN, 2003; USP 27, 2004).

A dissolução de fármacos pode ainda ser determinada por um segundo o método, conhecido como *particulate dissolution* ou dissolução particulada, onde o fármaco pulverulento é adicionado a determinado volume de meio de dissolução, utilizando-se um sistema de agitação, não havendo controle da área superficial. Este método é utilizado para avaliar a influência do tamanho de partícula e do seu diâmetro, porém não existe definição do dispositivo a ser utilizado nem metodologias descritas para realização do teste (CHAN, 1989; SWANEPOEL, 2003).

Este tipo de caracterização de fármacos traz subsídios para identificar determinada matéria-prima que potencialmente daria origem a um medicamento com biodisponibilidade inadequada. Por outro lado, subsidia a substituição de matérias-primas de diferentes origens e distintas características físicas, as quais, entretanto, não estariam alterando apreciavelmente a velocidade de dissolução intrínseca. Por conseguinte, esperar-se-ia, alteração não apreciável no produto final, quanto à dissolução do ativo da formulação (CHAN & GRANT, 1989; VIEGAS, 2003).

Estudos recentes propõem que a velocidade de dissolução intrínseca pode ser um método mais conveniente para se caracterizar fármacos do que a classificação biofarmacêutica, que é baseada na hidrossolubilidade da molécula e na sua dose de administração. Sendo assim, até mesmo do ponto de vista regulatório, há uma proposta em se utilizar os dados de dissolução intrínseca para subsidiar a possível dispensa de estudos de biodisponibilidade quando da mudança de fornecedor ou características do fármaco (CARLIN, 2002; YU, 2004).

5.1 Teoria da dissolução intrínseca

Uma derivação da equação de Noyes e Whitney também é utilizada no cálculo da velocidade ou taxa de dissolução intrínseca, pois uma vez que as condições *sink* são mantidas, o gradiente de concentração é considerado constante, conforme equação descrita abaixo:

$$j = \frac{VdC}{dt} \cdot \frac{1}{A} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde,

j = velocidade ou taxa de dissolução intrínseca (mg/min/cm²)

V = volume do meio de dissolução (mL)

A = área superficial da amostra (cm²)

dC/dt = velocidade de dissolução através do tempo (mg/mL/min)

A quantidade cumulativa do fármaco, dissolvida em cada intervalo de tempo, deve ser corrigida considerando o volume de amostragem. Para calcular a taxa de dissolução deve-se construir um gráfico com a quantidade acumulada da substância dissolvida por unidade de área em função do tempo. A taxa de dissolução intrínseca da amostra expressa em mg/min/cm², em determinadas condições de agitação e meio, é dada pela inclinação da reta, obtida por regressão linear (USP 27, 2004; YU, 2004).

O conhecimento da velocidade de dissolução intrínseca é útil na predição de prováveis problemas de absorção relacionados à velocidade de dissolução. Tipicamente taxas de dissolução intrínseca maiores que 0,1mg/min/cm², indicam que possivelmente a absorção não está associada à velocidade de dissolução, ao passo que, taxas de dissolução intrínseca menores que 0,1mg/min/cm² sugerem que a dissolução será a etapa limitante para a absorção (YU, 2004).

5.2 Dispositivo utilizado para determinação da dissolução intrínseca em disco

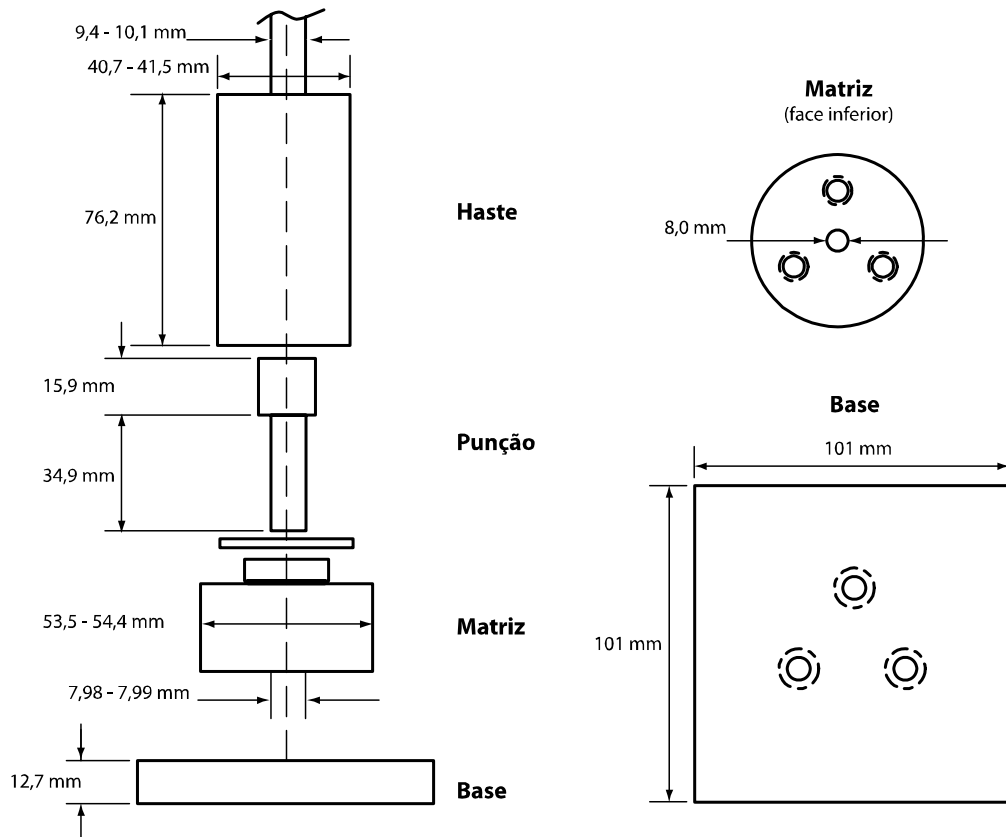
Apesar dos primeiros estudos relacionados à dissolução intrínseca, que levaram à concepção do equipamento original, por John Wood, serem datados de 1963, apenas recentemente houve aumento no interesse, e conseqüentemente nas pesquisas, envolvendo a técnica (WOOD, 1965).

O equipamento originalmente concebido sofreu algumas modificações e encontra-se descrito na USP, porém ainda hoje é conhecido como *Wood's apparatus* (vide detalhes na Figura 2). Este consiste em um punção e uma matriz, fabricadas em aço resistente. Uma quantidade do fármaco é colocada na cavidade da matriz. O pó é comprimido em uma prensa hidráulica utilizando a força de compressão mínima necessária para formar um disco compacto não desintegrante que terá apenas uma face, de área definida, exposta.

A haste que fixa a matriz contendo o disco é conectada ao dissolutor e o disco é então imerso no meio de dissolução, quando a agitação se inicia. A área de exposição do disco deve ser ajustada para 3,8 cm do fundo da cuba de dissolução. Outros cuidados devem ser observados para que não se altere o fluxo do meio de dissolução, como alinhamento da haste e a formação de bolhas de ar na superfície do disco.

Devem ser retiradas amostras em intervalos pré-determinados, que serão analisadas através de métodos de quantificação validados. O tempo total de teste varia com as características de cada fármaco. O disco fica preso à matriz de maneira que 50% a 75% do mesmo se dissolvam sem se desprender, quando isso ocorre o teste deve ser finalizado (WOOD, 1965; USP 2004).

a)



b)



Figura 2- Desenho técnico (a) e fotografia (b) do dispositivo para estabelecimento da dissolução intrínseca em disco.

A dissolução intrínseca assume atualmente grande importância como item de verificação da qualidade de fármacos. Porém, apesar do equipamento e dos conceitos estarem disponíveis na USP, ainda não existem monografias oficiais com as condições a serem utilizadas no teste, considerando que para cada fármaco, pesquisas em torno do meio de dissolução e demais parâmetros devem ser realizadas previamente.

5.3 Fatores que influenciam a velocidade de dissolução intrínseca

Os fatores que influenciam a velocidade de dissolução intrínseca, excluindo-se o polimorfismo, estão relacionados ao hábito, solvatação e imperfeição dos cristais (CHAN, 1989), conforme abaixo:

- Hábito do cristal
 - a) Diferentes polaridades das várias faces do cristal (anisotropia) resultando em diferentes afinidades pela água (ex.: molhabilidade).
 - b) Hidrodinâmica relacionada à forma do hábito (ex.: a forma de agulha favorece o fluxo do meio de dissolução sobre as partículas).
- Solvatação entre cristais

Solvatos estequiométricos ou não, incluindo hidratos, apresentam diferenças nas velocidades de dissolução (ex.: solvato > não-solvato e anidrato > hidrato).
- Imperfeições do cristal

Imperfeições do cristal aumentam a energia interna que aumenta a velocidade de dissolução.

Sendo assim, o conhecimento da taxa de dissolução intrínseca é útil para:

- Caracterizar ativos no estado sólido.
- Determinar parâmetros termodinâmicos associados com transição de fase cristalina.
- Investigar o fenômeno da transferência de massa durante a dissolução.
- Verificar os efeitos de pH e tensoativos na solubilização de ativos fracamente solúveis.
- Compreender a relação entre a velocidade de dissolução e a forma cristalina.

6. Hidroclorotiazida

A hidroclorotiazida (HCTZ) é um diurético tiazídico amplamente utilizado no tratamento de edemas, doença cardíaca congestiva e diversas formas de disfunção renal e hepática. Geralmente é administrada em conjunto a anti-hipertensivos, pois resulta em uma redução efetiva da pressão por mecanismos associados, como a redução da resistência periférica (GILMAN, 1991; SILVA, 1999).

6.1 Propriedades físico-químicas

A hidroclorotiazida ou 6-cloro-3,4-dihidro-1,2,4-benzotiazina-7-sulfonamida-1,1-dióxido, possui fórmula e peso molecular de $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ e 297,74 g/mol, respectivamente. Apresenta-se sob a forma de pó cristalino branco a amarelado, com ponto de fusão entre 273-275°C. É praticamente insolúvel em água, solúvel em acetona, etanol e soluções alcalinas diluídas. É um ácido fraco, com $pK_a = 7,9$ e coeficiente de partição $\log P = -0,07$. A DL_{50} , determinada em ratos, é de 590 mg/kg por via endovenosa e de mais de 8 g/kg por via oral (DESAI, 1993; MARTINDALE, 1999; THE MERCK INDEX, 2001).

6.2 Síntese e relação estrutura/atividade

Conforme ilustrado na Figura 3, os diuréticos tiazídicos e hidrotiazídicos são sintetizados a partir da m-cloroanilina (I) que por clorossulfonação à alta temperatura, produz o cloreto de bissulfonamida (II). A amonólise desta resulta na bissulfonamida correspondente (III). Esta, por acetilação em condições específicas, fornece tiazidas (IV), que tratadas com aldeído, em determinadas condições, ou por redução, produzem hidrotiazidas (V). A hidroclorotiazida é obtida por redução da posição 3,4 do anel tiazínico da clorotiazida (KATZUNG, 1998).

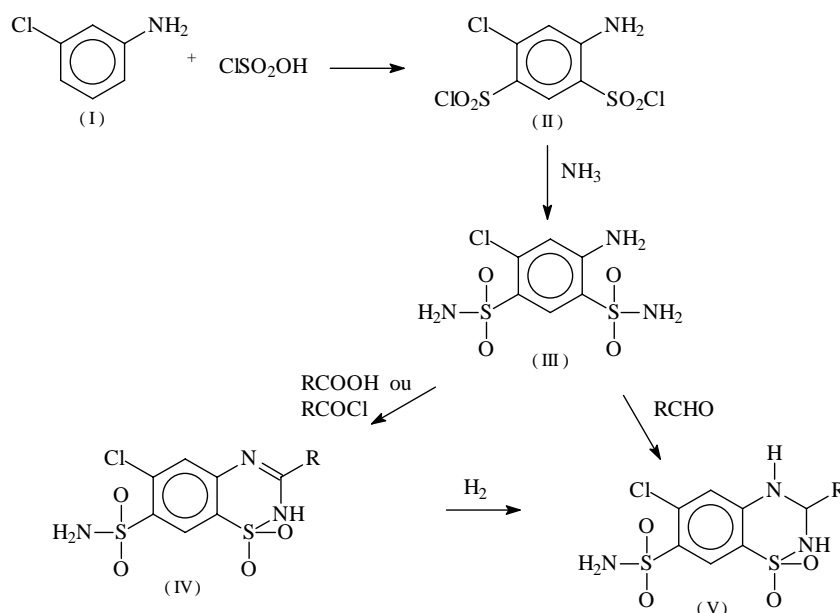


Figura 3- Síntese e estrutura química dos diuréticos tiazídicos e hidrotiazídicos.
Para R=H: I = m-cloroanilina, II = cloreto de bissulfonamida, III = bissulfonamida, IV = clorotiazida e V = hidroclorotiazida.

A inibição da anidrase carbônica pelas sulfas diuréticas evidenciou o padrão de similaridade molecular entre a função sulfonamida -SO₂NH₂ - destes fármacos, e o substrato natural da enzima, o ácido carbônico. A partir desta constatação, pôde ser evidenciado que o reconhecimento das sulfonamidas pela anidrase carbônica dependia

desta funcionalidade, evidenciando sua natureza farmacofórica. As sulfas diuréticas e o substrato natural interagem com a anidrase carbônica através de diversas ligações-H com o sítio-ativo (BARREIRO, 2001).

6.3 Propriedades farmacológicas e mecanismo de ação da hidroclorotiazida

As tiazidas pertencem à classe dos saluréticos, ou seja, diuréticos que inibem a reabsorção de sódio, cloreto e água, além de aumentarem a excreção urinária de íons bicarbonato. A hidroclorotiazida aumenta a renina plasmática e a secreção de aldosterona, resultando na diminuição do potássio sérico.

As tiazidas e agentes sulfamídicos relacionados são idênticos na sua ação, diferindo apenas no período de ação e na dose. A duração do efeito da hidroclorotiazida é de 6 a 12 horas, a dose inicial diária usualmente empregada é de 50mg a 100mg para o tratamento de edemas e de 25mg a 50mg para o tratamento da hipertensão.

A HCTZ pode provocar hipocalcemia, hiponatremia e outros desequilíbrios eletrolíticos. Uma vez que reduzem a excreção renal de ácido úrico, tendem a elevar os níveis deste ácido, causando, assim, ataques de artrite gotosa aguda (MARTINDALE, 1999; DEF, 2003).

6.4 Propriedades farmacocinéticas da hidroclorotiazida

A hidroclorotiazida é rapidamente absorvida a partir do duodeno e jejuno superior. A absorção é sítio-específica e incompleta após administração oral, possuindo biodisponibilidade de aproximadamente 65%. A administração após as refeições aumenta a absorção, devido à diminuição do trânsito gastrointestinal. A meia-vida plasmática é de cerca de 5 horas e a de eliminação, cerca de 15 horas. A principal via de eliminação é a renal, sendo excretada inalterada na urina. A HCTZ atravessa a barreira placentária e é encontrada no leite materno. Concentrações plasmáticas máximas são alcançadas em cerca de 2 horas após a administração, quando a diurese se inicia, alcançando o máximo da atividade em cerca de 4 horas (HARRIS, 1989; DESAI, 1993; MARTINDALE, 1999).

6.5 Formas farmacêuticas e apresentação

A hidroclorotiazida apresenta-se, no mercado brasileiro, em comprimidos contendo 50mg do fármaco. O medicamento referência é o Drenol[®], fabricado pelo Laboratório Pharmacia Brasil Ltda., e atualmente existe um medicamento genérico registrado conforme Lei nº 9.787/99, sendo este produzido pelo Laboratório Neo Química Comércio e Indústria Ltda.

Visto seu efeito conjugado no tratamento da hipertensão, na maioria das vezes a HCTZ encontra-se associada à anti-hipertensivos de diferentes classes farmacológicas, em concentrações diversas, como: amilorida, reserpina, sulfato de dihidralazina, irbesartan, losartan, enalapril, fumarato de bisoprolol, valsartan, metildopa, triantereno, lisinopril, metoprolol, propranolol, entre outros (DEF, 2003).

6.6 Análise quantitativa e controle de qualidade

Nas Farmacopéias Britânica (BP, 2002), Americana (USP 27, 2004) e Brasileira (F. BRAS IV, 1996) encontram-se descritas as monografias analíticas para controle de qualidade da HCTZ matéria-prima e de comprimidos de liberação imediata contendo o fármaco. A primeira não menciona o teste de dissolução, já a segunda e a terceira descrevem especificação e metodologia para a determinação da dissolução dos comprimidos, embora sejam diferentes conforme Tabela 5. A análise de dissolução intrínseca para a HCTZ matéria-prima, não se encontra descrita em nenhuma farmacopéia até o momento.

Tabela 5- Métodos de dissolução para HCTZ comprimidos conforme USP 27 (2004) e F. BRAS IV (1996).

Farmacopéia	Dispositivo	Meio de dissolução	Tempo (min.)	Rotação (rpm)	Método de Quantificação	Especificação (Q)
Americana	cesta	900 mL de HCl 0,1N	60	100	UV (272 nm)	60%
Brasileira	cesta	900 mL de HCl 0,1N	30	150	UV (272 nm)	60%

Fonte: USP 27 (2004) e F. BRAS IV (1996).

Conforme relatado anteriormente, a HCTZ encontra-se associada a diversos anti-hipertensivos. Nestes casos a USP 27 (2004) descreve metodologias que utilizam diferentes parâmetros e especificações para a dissolução da HCTZ a partir de comprimidos e cápsulas, como pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6- Métodos de dissolução descritos na USP 27 (2004) para a HCTZ em associação.

Medicamento	Dispositivo	Meio de dissolução	Tempo (min.)	Rotação (rpm)	Método de quantificação	Especificação* (Q)
HCZT + tartarato de metoprolol comprimidos	cesta	900 mL de suco gástrico simulado (sem enzima)	30	100	UV	80%
HCZT + maleato de enalapril comprimidos	pá	900 mL de água	30	50	UV	60%
HCZT + propranolol comprimidos	cesta	900 mL de HCl 0,01N	30	100	UV	80%
HCZT + reserpina comprimidos	pá	900 mL de (HCl 0,1N : n-propanol) 3:2	60	50	UV	80%
HCZT + espirolactona comprimidos	pá	900 mL de HCl 0,1N contendo 0,1% de lauril sulfato de sódio	60	75	CLAE	75%
HCZT + maleato de timolol comprimidos	pá	900 mL de HCl 0,1N	20	50	UV	80%
HCZT + triamtereno cápsulas (teste 1)	pá	900 mL de ácido acético 0,1N contendo 1% de polissorbato 20	120	100	UV	80%
HCZT + triamtereno cápsulas (teste 3)	cesta	900 mL de HCl 0,1N	45	100	UV	75%
HCZT + triamtereno comprimidos	pá	900 mL de HCl 0,1N	30	75	UV	80%
HCZT + captopril comprimidos	cesta	900 mL de HCl 0,1N	30	50	CLAE	60%

Fonte: USP 27 (2004).

* Q para a HCTZ.

OBJETIVOS

1. Objetivos gerais

- Determinar a dissolução intrínseca em disco e particulada de hidroclorotiazida, a ser utilizada na avaliação de matérias-primas de diferentes perfis granulométricos, com a finalidade de melhor caracterizar a matéria-prima e poder inferir o quanto esta propriedade afetaria a dissolução do ativo a partir de comprimidos.
- Estabelecer correlação entre os resultados de dissolução intrínseca em disco e particulada e os resultados de dissolução obtidos a partir de formulações contendo hidroclorotiazida de diferentes perfis granulométricos.

2. Objetivos específicos

- Determinar a solubilidade de HCTZ de diversas granulometrias nos meios propostos para os ensaios de dissolução.
- Caracterizar a dissolução do fármaco empregando o dispositivo de *Wood*, para estabelecimento da dissolução intrínseca em disco.
- Realizar ensaio de dissolução do fármaco na forma pulverulenta, para estabelecimento da dissolução particulada, avaliando sua exequibilidade e sua validade como alternativa ao procedimento em disco.
- Propor ensaio de dissolução que permita melhor discriminação do comportamento de formulações, utilizando como modelo os medicamentos de referência e genérico, uma vez que, estes são bioequivalentes por definição.
- Encaminhar proposta de teste de dissolução de comprimidos de HCTZ para a Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira, visando sua publicação na ocasião de revisão do compêndio, incluindo-o na monografia oficial de comprimidos de HCTZ de liberação imediata.

MATERIAIS E MÉTODOS

1. Materiais

1.1 Equipamentos e acessórios

- Agitador magnético com banho termostaticado MARTE - MAG15
- Analisador de tamanho de partículas por difração a laser SHIMADZU - SALD2101
- Analisador automático de peso, espessura, diâmetro e dureza de comprimidos METTLER TOLEDO - KRAEMER AB54
- Amostrador automático VANKEL - VK 8000
- Balança analítica METTLER TOLEDO - AG204
- Centrífuga HERMLE - Z200A
- Destilador QUIMIS
- Desintegrador VANKEL - VK100
- Dissolutor VANKEL - VK7010 com aquecedor externo VANKEL - VK750D
- Espectrofotômetro VARIAN - CARY 50
- Filtro Full Flow[®] VANKEL 10 micra
- Friabilômetro VANKEL
- Membrana de diálise de acetado de celulose SIGMA D-9527, lote 10B049527, largura 43 mm, 12.000 kD.
- Potenciômetro METTLER TOLEDO - MPC227
- Prensa hidráulica SCHULZ - PHS 15t
- Ultra-som THORNTON UNIQUE - USC2850

1.2 Reagentes e materiais de referência

- HCl p.a. CONTROLTEC
- Metanol p.a. TEDIA
- n-heptano p.a. MERCK
- Hidróxido de Sódio p.a. MERCK

- Hidroclorotiazida substância química de referência, fornecida por Produtos ROCHE Químicos e Farmacêuticos S.A., fabricada por Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Suíça, teor de 99,8%, lote SI9911T004, fabricada em 27/09/2000 e válida até 27/09/2005.

1.3 Matérias-primas

- Hidroclorotiazida (matéria-prima **R**): sintetizada por Pliva Pharmaceutical Industry Inc. na Itália, número de lote 16626, teor 100,9% na base anidra, 0,1% de perda por secagem, fabricada em novembro/2002 e com validade de 5 anos.
- Hidroclorotiazida (matéria-prima **A**): sintetizada por F. Hoffmann-La Roche Ltda. na Suíça, número de lote 20132, teor 101,5% na base anidra, 0,1% de perda por secagem, fabricada em dezembro/1999 e com validade de 5 anos.
- Hidroclorotiazida (matéria-prima **F**): sintetizada por Pliva Pharmaceutical Industry Inc. na Itália, tipo *fine*, número de lote 1750122, teor 100,2% na base anidra, 0,1% de perda por secagem, fabricada em dezembro/2002 e com validade de 5 anos.
- Hidroclorotiazida (matéria-prima **SF**): sintetizada por Pliva Pharmaceutical Industry Inc. na Itália, tipo *super fine*, número de lote 1770112, teor 100,4% na base anidra, 0,2% de perda por secagem, fabricada em dezembro/2002 e com validade de 5 anos.
- Hidroclorotiazida (matéria-prima **VF**): sintetizada por Pliva Pharmaceutical Industry Inc. na Itália, tipo *very fine*, número de lote 2119023, teor 99,5% na base anidra, 0,1% de perda por secagem, fabricada em fevereiro/2003 e com validade de 5 anos.

1.4 Produtos farmacêuticos

- Drenol[®] Medicamento Referência conforme Lei nº 9.787/99 (produto **A**) - comprimidos de hidroclorotiazida 50mg adquiridos no mercado, fabricados por Pharmacia Brasil Ltda., acondicionados em blister com 15 comprimidos, lote BA0107, com data de fabricação de janeiro/2004 e validade de 2 anos. Cada comprimido contém os seguintes excipientes: amido de milho, carbonato de cálcio, manitol, dióxido de silício coloidal, estearato de magnésio e polivinilpirrolidona.
- Hidroclorotiazida Medicamento Genérico conforme Lei nº 9.787/99 (produto **B**) - comprimidos de hidroclorotiazida 50mg adquiridos no mercado, fabricados por Laboratório Neo Química Comércio e Indústria Ltda, acondicionados em blister com 20 comprimidos, lote 8141, com data de fabricação de janeiro/2004 e validade de 2 anos. Cada comprimido contém os mesmos excipientes descritos para o produto A.
- Produto **C** - comprimidos de hidroclorotiazida 12,5mg em granel, produzidos com a matéria-prima **A**, fabricados por Produtos ROCHE Químicos e Farmacêuticos S.A. em junho/2004 e válidos por 3 anos. Cada comprimido contém os seguintes excipientes: amido de milho, estearil fumarato de sódio, hidroxipropilmetilcelulose, lactose e talco.
- Produto **D** - comprimidos de hidroclorotiazida 12,5mg em granel, produzidos com a matéria-prima **R**, fabricados por Produtos ROCHE Químicos e Farmacêuticos S.A. em novembro/2003 e válidos por 3 anos. Cada comprimido contém os mesmos excipientes descritos para o produto C.

2. Métodos

2.1 Análise quantitativa de hidroclorotiazida (HCTZ) por espectrofotometria UV

A quantificação da HCTZ nos meios utilizados na avaliação da solubilidade e nos ensaios de dissolução foi realizada por espectrofotometria de absorção no UV, tomando-se como base as condições descritas na USP 27 (2004) para dissolução do medicamento, onde adaptações foram necessárias em função das diferentes concentrações e solventes.

Para verificar o comprimento de onda de máxima absorção (λ_{\max}), foram traçados espectros de absorção na região do UV para a HCTZ nos meios utilizados.

2.1.1 Preparo das soluções-estoque (SE) de HCTZ

Foram pesados analiticamente 55,0 mg de HCTZ substância química de referência e em seguida, transferidos para balão volumétrico de 100,0 mL. Foram adicionados 5,0 mL de metanol, levando-se o balão volumétrico para o ultra-som. Após total solubilização, o volume foi completado com água ou HCl 0,1N, dependendo da solução estoque requerida. Uma alíquota de 10,0 mL foi transferida para um segundo balão volumétrico de 100,0 mL, sendo seu volume completado com água ou HCl 0,1N, resultando em SE com concentração de 55,0 $\mu\text{g/mL}$.

2.1.2 Curvas padrão

A partir das SE em água ou HCl 0,1N foram transferidas diferentes alíquotas para balões volumétricos, conforme Tabela 7. O volume final dos balões volumétricos foi completado com água ou HCl 0,1N conforme solução estoque utilizada.

Tabela 7- Volume utilizado e concentração final obtida no preparo das curvas padrão.

Alíquota (mL)	Balão volumétrico (mL)	Concentração Final ($\mu\text{g/mL}$)
2,0	100,0	1,1
5,0	100,0	2,75
4,0	50,0	4,4
10,0	100,0	5,5
3,0	25,0	6,6

2.1.3 Cálculos

A absorvância (Abs) correspondente a cada diluição da curva padrão foi incluída em gráfico de Abs versus concentração ($\mu\text{g/mL}$) e a equação da reta foi determinada através de regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados, sendo então utilizada para determinação da concentração de HCTZ nas amostras.

2.1.4 Espectro de absorção

Foram utilizadas as soluções com concentração de $5,5 \mu\text{g/mL}$ em água e HCl 0,1N para determinação do espectro de absorção no UV da HCTZ, entre 200 nm e 400 nm.

2.2 Determinação do pH dos meios

O pH dos meios foi determinado através de potenciômetro (METTLER TOLEDO – MPC227), previamente calibrado com soluções tampão pH 7,0 e pH 4,0 (MERCK), à temperatura ambiente.

2.3 Determinação da distribuição granulométrica das matérias-primas R, A, F, SF e VF por difração a laser

2.3.1 Descrição da metodologia e do equipamento

O método se baseia na premissa de que o ângulo de difração do laser é inversamente proporcional ao tamanho da partícula por ele incidida. A distribuição do tamanho das partículas é calculada com base na intensidade da luz recebida pelo detetor (RAWLE, 2004).

A faixa de leitura do equipamento utilizado é de 0,03 μ m a 1000 μ m. O mesmo consiste em: uma fonte de raio laser, conjunto de detecção (constituído por 81 fotosensores em um tubo foto multiplicador) e um amostrador, podendo ser utilizado o pó seco ou uma dispersão da amostra em líquido.

Antes de se iniciar o uso do equipamento, verifica-se a posição do feixe do laser nos eixos X e Y e efetua-se um ajuste mecânico, caso os mesmos estejam desalinhados. Em seguida, é realizada uma verificação da resposta do equipamento, utilizando-se padrões com distribuição granulométrica conhecida. Para o amostrador via úmida utiliza-se Lycopodium (partícula biológica natural) e para o amostrador via sólida, Alumina 3000 (Al₂O₃). Os mesmos devem apresentar determinada distribuição granulométrica nos percentuais 25, 50 e 75%, de acordo com o laudo analítico do fornecedor.

No cálculo para determinação do tamanho das partículas foi utilizada a aproximação de Fraunhofer, que assume que todos os tamanhos de partícula espalham a luz com a mesma eficiência e que as partículas analisadas são opacas, e, portanto não transmitem a luz incidida (MARTIN, 1993; RAWLE, 2004).

2.3.2 Preparo do meio de dispersão

Foram pesados 1g de monooleato de sorbitan (Span 80[®]), utilizado como agente tensoativo, e 1g de cada matéria-prima em erlenmayer, adicionou-se 1 litro de n-heptano, utilizado como solvente, e agitou-se a mistura por 4 horas à temperatura ambiente em agitador magnético. A solução foi filtrada em filtro 0,45 μm .

O meio de dispersão é preparado com um solvente onde a HCTZ não é solúvel e um agente tensoativo. Após o período de agitação a HCTZ é retirada por filtração. Isto se faz necessário para que as impurezas, que por ventura existam no fármaco, se dissolvam no meio de dispersão que será utilizado como branco.

2.3.3 Procedimento

Foram transferidos 40mL do meio de dispersão para a célula do amostrador via úmida. Foi realizada a leitura do mesmo, utilizado como branco, com a finalidade de zerar o equipamento. Em seguida, foram adicionados cerca de 50 mg da amostra ao meio de dispersão contido na célula, acionando-se o agitador do amostrador via úmida, para dispersar a HCTZ. Verificou-se se a quantidade de amostra foi suficiente para atingir a concentração óptica ideal, onde a absorvância obtida deve estar entre 0,1 e 0,2. Iniciou-se a leitura automática da dispersão da amostra. O gráfico obtido apresenta a distribuição granulométrica normatizada pelo diâmetro das partículas em μm .

2.4 Determinação da solubilidade da HCTZ

A solubilidade das matérias-primas R, A e VF foi avaliada em água e HCl 0,1N, conforme abaixo. O ensaio foi realizado em triplicata:

2.4.1. Procedimento

- Foram adicionados 10 mL de cada meio a ser testado e um excesso de HCTZ matéria-prima em tudo de ensaio, de modo a se obter uma suspensão.
- Os tubos de ensaios foram colocados em banho-maria a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, provido de agitação magnética, permanecendo por 24 horas sob agitação, a uma velocidade de 600 rpm.
- O conteúdo dos tubos foi centrifugado a 1600 rpm, por 5 minutos e o sobrenadante foi filtrado, imediatamente após, em filtro 0,45 μm de porosidade, retornando o filtrado para o banho-maria.
- Os filtrados foram diluídos na proporção 1/100, com os respectivos meios, e suas absorvâncias obtidas no λ_{max} selecionado no item 2.1.4.

2.4.2 Cálculos

A partir dos valores de absorvância de cada amostra e da respectiva equação da reta (descrita em 2.1.3), para cada meio, obtiveram-se os valores de concentração de HCTZ nas amostras, em $\mu\text{g/mL}$, que multiplicadas pelo fator de diluição, fornecem a concentração de saturação de HCTZ em cada meio, na condição de temperatura empregada (37°C).

2.5 Determinação da velocidade de dissolução intrínseca em disco das matérias-primas R, A e VF conforme descrito na USP 27 (2004)

2.5.1 Dispositivo

Para a determinação da velocidade intrínseca em disco foi empregado o dispositivo de Wood, descrito no item 5.2 - Introdução (WOOD, 1965; USP 2004).

2.5.2 Preparo da pastilha

Foi adicionada à cavidade da matriz uma quantidade de matéria-prima suficiente para atingir o nível marcado, logo em seguida, o punção foi encaixado. O pó foi comprimido em prensa hidráulica utilizando-se uma força de compressão de 2 toneladas (equivalente à $3630,11 \text{ kgf/cm}^2$) durante um minuto. Obteve-se uma pastilha compacta não desintegrante de $0,5 \text{ cm}^2$ de área, com uma das superfícies faceando a parte inferior da matriz. Em seguida, o punção foi removido.

2.5.3 Montagem do dispositivo

Fixou-se a matriz à haste, sendo o conjunto conectado ao dissolutor. O dispositivo foi imerso no meio de dissolução (900mL de água à 37°C , previamente degaseificada) com a área de exposição da pastilha ajustada para 3,8 cm do fundo da cuba de dissolução, conforme descrito na USP 27 (2004), e, imediatamente, iniciou-se a agitação da haste a 100 rpm. O ensaio foi realizado em triplicata.

2.5.4 Tempo de ensaio e coleta das amostras

As alíquotas do meio de dissolução foram retiradas em intervalos de 5 minutos até que um total de 10 pontos fosse obtido. A amostragem foi realizada através de amostrador automático, cujas cânulas eram providas de filtros cilíndricos de 10 μm .

2.5.5 Quantificação da HCTZ dissolvida

A quantificação da HCTZ dissolvida foi realizada por espectrofotometria no UV no $\lambda_{\text{máx}}$ selecionado, não sendo necessário realizar diluição das alíquotas.

2.6 Determinação da velocidade de dissolução intrínseca das matérias-primas R, A e VF utilizando-se o dispositivo modificado

2.6.1 Preparo da pastilha

Conforme item 2.5.2.

2.6.2 Procedimento

Com auxílio de pinça adequada, a matriz, sem a haste, foi colocada no fundo da cuba, imersa no meio de dissolução (900mL de água à 37°C, previamente desgaseificado), com a área de exposição da pastilha voltada para cima. Para agitação do meio, utilizou-se a pá (*Apparatus 2*) a 100 rpm. A distância da parte inferior da pá até a superfície da pastilha foi ajustada em 3,4 cm (MAUGER, 2003).

2.6.3 Tempo de ensaio e coleta da amostras

Conforme item 2.5.4.

2.6.4 Quantificação da HCTZ dissolvida

Conforme item 2.5.5.

2.7 Determinação da dissolução particulada das matérias-primas R, A, e VF adicionando-se as mesmas diretamente à cuba de dissolução

A dissolução das matérias-primas em avaliação foi realizada através da introdução das mesmas diretamente na cuba de dissolução (CHAN, 1989; SWANEPOEL, 2003).

2.7.1 Procedimento

Foram pesados, quantitativamente, cerca de 50,0 mg de cada matéria-prima em pesa-pós de vidro. O conteúdo dos mesmos foi adicionado às cubas de dissolução contendo 900 mL de água à 37°C, previamente degaseificada. A quantidade exata adicionada foi determinada pesando-se por diferença os pesa-pós utilizados. A agitação do meio foi obtida através da pá ajustada a 50 rpm. O ensaio foi realizado em triplicata para cada matéria-prima testada.

2.7.2 Tempo de ensaio e coleta das amostras

Conforme item 2.5.4.

2.7.3 Quantificação da HCTZ dissolvida

Conforme item 2.5.5. Os valores foram expressos em percentual dissolvido em relação ao adicionado, levando-se em consideração a quantidade de HCTZ matéria-prima adicionada em cada cuba.

2.8 Determinação da dissolução particulada das matérias-primas R, A, e VF utilizando-se membrana de diálise

A utilização de membrana de diálise no estabelecimento da cinética de liberação de fármacos a partir de sistemas microdispersíveis foi descrita por C. Washington em 1990. Posteriormente, Esposito e colaboradores (2002) utilizaram a técnica na verificação da cinética de liberação de ácido ascórbico a partir de micropartículas revestidas com Eudragit®.

No presente trabalho, a avaliação da velocidade de dissolução de HCTZ adicionada à membrana de diálise foi utilizada com o intuito de padronizar a imersão do pó no meio de dissolução, mantendo-se uma condição de molhabilidade uniforme e evitando-se uma possível adsorção do material na superfície do agitador e da cuba. Além disso, um possível dano mecânico, causado pelo agitador às amostras, seria evitado. Uma vez que, esta técnica parece ser mais reprodutível no que tange a adição do material às cubas, foi visualizada uma redução da variabilidade entre as réplicas.

2.8.1 Preparo da membrana

Segmentos de membrana de acetato de celulose de cerca de 10 cm foram cortados e hidratados com 300 mL de água destilada fervente por 5 minutos em um bécher. Este procedimento foi repetido por mais duas vezes. Em seguida, a membrana foi lavada em água destilada corrente, aberta em uma das laterais e cortada em pedaços de 3 cm x 3 cm.

2.8.2 Procedimento

Foram pesados, quantitativamente, cerca de 50,0 mg de cada matéria-prima em pesa-pós de vidro. O conteúdo dos mesmos foi transferido para o centro

dos segmentos da membrana, cujas extremidades foram reunidas e fechadas com auxílio de filamento de algodão. Os invólucros de membrana contendo HCTZ foram fixados às cestas do dissolutor, prendendo-se o filamento às garras das mesmas. As cubas de dissolução continham 900 mL de água à 37°C previamente desgaseificada. A agitação do meio foi obtida através da cesta ajustada a 100 rpm. O ensaio foi realizado em triplicata para cada matéria-prima testada.

2.8.3 Tempo de ensaio e coleta da amostras

As alíquotas do meio de dissolução foram retiradas em intervalos de 10 minutos até que um total de 6 pontos fosse obtido. A amostragem foi realizada através de amostrador automático, cujas cânulas eram providas de filtros cilíndricos de 10 µm.

2.8.4 Quantificação da HCTZ dissolvida

Conforme item 2.5.5. Os valores foram expressos em percentual dissolvido em relação ao adicionado, levando-se em consideração a quantidade de HCTZ matéria-prima adicionada em cada invólucro de membrana.

2.9 Caracterização geral dos produtos A, B, C e D

Os produtos utilizados no presente trabalho foram caracterizados quanto aos ensaios clássicos para comprimidos, como peso médio e uniformidade de peso, uniformidade de dose por conteúdo, dureza, friabilidade, desintegração e determinação do teor de HCTZ.

2.9.1 Peso médio e uniformidade de peso

Este ensaio foi conduzido de acordo com a metodologia geral descrita na F. BRAS. IV (1988) e na USP 27 (2004), onde 20 comprimidos foram pesados individualmente, através de analisador automático de peso, espessura, diâmetro e dureza de comprimidos METTLER TOLEDO - KRAEMER AB54, sendo permitida uma variação de 5% em relação ao peso médio.

2.9.2 Dureza

Este teste foi realizado de acordo com a metodologia geral descrita na F. BRAS. IV (1988) e na BP (2002), onde 10 comprimidos foram avaliados quanto a dureza, empregando o equipamento descrito no item 2.9.1.

2.9.3 Friabilidade

Este teste foi realizado em friabilômetro VANKEL de acordo com a metodologia geral descrita na F. BRAS. IV (1988), utilizando-se 20 comprimidos.

2.9.4 Desintegração

Este teste foi realizado utilizando-se 6 comprimidos, água como meio de desintegração ($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) e desintegrador VANKEL VK100, de acordo com a metodologia geral descrita na F. BRAS. IV (1988) e na USP 27 (2004). Os discos não foram utilizados.

2.9.5 Teor de HCTZ

A determinação do teor de HCTZ nos comprimidos foi realizada por espectrofotometria de absorção no UV, baseando-se na técnica descrita na BP (2002).

2.9.5.1 Preparo da solução padrão

Foram pesados, quantitativamente, cerca de 30,0 mg de HCTZ substância química de referência e transferidos para balão volumétrico de 100,0 mL. Foram adicionados 50mL de hidróxido de sódio 0,1 M e a solução foi agitada em balão volumétrico por 20 minutos. Posteriormente, o volume final do balão volumétrico foi completado com hidróxido de sódio 0,1 M, resultando numa concentração de 0,3 mg/mL. Transferiu-se 5,0 mL desta solução para balão volumétrico de 100,0 mL, cujo volume foi completado com água destilada.

2.9.5.2 Preparo da solução amostra

Uma amostra de 20 comprimidos, de peso médio conhecido, foi triturada a pó fino com auxílio de gral e pistilo. Foram pesados, analiticamente, uma quantidade de pó equivalente a 30,0 mg de HCTZ e transferida para balão volumétrico de 100,0 mL. Foram adicionados 50mL de hidróxido de sódio 0,1 M e a solução foi agitada por 20 minutos. Posteriormente, o volume final do balão volumétrico foi completado com hidróxido de sódio 0,1 M. A solução foi filtrada e transferiu-se 5,0 mL do filtrado para balão volumétrico de 100,0 mL, cujo volume foi completado com água destilada. A solução amostra foi preparada em triplicata.

2.9.5.3 Ensaio

As leituras de absorvância das soluções padrão e amostra foram efetuadas em comprimento de onda de 272nm, utilizando-se água destilada como branco.

2.9.5.4 Cálculos

O teor de HCTZ nos comprimidos (mg e % sobre o declarado) foi calculado conforme a seguir:

$$m_{\text{HCTZ}} (\text{mg}) = \frac{\text{Abs}_a}{\text{Abs}_p} \times C_p \times \frac{1}{fd} \times \frac{pm}{mp} \quad (\text{Equação 5})$$

$$\text{Teor (\%)} = \frac{m_{\text{HCTZ}} (\text{mg})}{D (\text{mg})} \times 100\% \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

m_{HCTZ} = quantidade de HCTZ nos comprimidos (mg)

Abs_a = absorvância da solução amostra

Abs_p = absorvância da solução padrão

C_p = concentração da solução padrão (mg/mL)

fd = fator diluição da amostra

pm = peso médio dos comprimidos (mg)

mp = massa pesada do triturado de comprimidos (mg)

D = quantidade declarada de HCTZ nos comprimidos (mg)

2.9.6 Uniformidade de dose por conteúdo

Este ensaio foi realizado determinando-se o teor de 10 unidades individuais, de acordo com o descrito em 2.9.5.

Cada comprimido foi triturado em balão volumétrico de 100,0 mL com auxílio de bastão de vidro. Procedeu-se conforme descrito em 2.9.5.2. Os valores individuais e o DPR dos mesmos foram interpretados de acordo com a F. BRAS. IV (1996) e USP 27 (2004).

2.10 Determinação do perfil de dissolução de comprimidos de HCTZ (produtos A, B, C e D)

A cinética de dissolução da HCTZ a partir dos comprimidos de liberação imediata foi avaliada em dissolutor de cubas (VANKEL, modelo 7010) sob diferentes condições experimentais, levando-se em consideração os parâmetros que influenciam a dissolução.

2.10.1 Meios de dissolução

Os meios testados foram água e HCl 0,1N, sendo estes utilizados após degaseificação, realizada conforme procedimento descrito na USP 27 (2004). O volume de meio utilizado nas cubas de dissolução em todos os ensaios foi de 900mL (F. BRAS. IV, 1996; CORVELEYN, 1998; USP 27, 2004).

2.10.2 Tipo de agitador e velocidade de agitação

Foram utilizados o agitador tipo cesta (*USP Apparatus 1*) na velocidade de 100 rpm e na velocidade 150 rpm (apenas para os produtos C e D) e o agitador tipo pá (*USP Apparatus 2*) na velocidade de 50 rpm.

2.10.3 Procedimento

O meio de dissolução previamente desgaseificado foi colocado nas cubas do dissolutor e após a estabilização da temperatura em $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, os comprimidos ($n=6$) foram inseridos nas mesmas. Nos tempos pré-determinados, alíquotas de 10 mL foram retiradas das cubas pelo amostrador automático, cujas cânulas eram providas de filtros cilíndricos de 10 μm . Não foi realizada a reposição do meio nas cubas.

2.10.4 Tempo de ensaio e coleta das amostras

A duração do ensaio foi de 1 hora, retirando-se a primeira alíquota após 5 minutos e a seguinte após 10 minutos de dissolução. As demais alíquotas foram retiradas em intervalos de 10 minutos até completar 60 minutos.

2.10.5 Quantificação da HCTZ dissolvida

A quantificação da HCTZ dissolvida foi realizada por espectrofotometria no UV, conforme descrito em 2.1, incluindo o preparo da SE de HCTZ (item 2.1.1) e curva padrão (item 2.1.2), empregando-se o respectivo meio de dissolução como solvente e o $\lambda_{\text{máx}}$ selecionado conforme item 2.1.4.

Para os produtos A e B, a alíquota retirada da cuba foi diluída no meio utilizado na proporção 5/50 antes da leitura em espectrofotômetro. Para os produtos C e D, não se efetuou diluição.

2.10.6 Cálculos

A partir da curva padrão, foram obtidos os valores de concentração de HCTZ, em mg/mL, que multiplicados pelo fator de diluição e volume de meio, forneceram a quantidade de HCTZ dissolvida em cada cuba por tempo, conforme equação:

$$\text{HCTZ}_{\text{diss}} (\%) = \frac{C_{\text{at}} \cdot \text{fd}^{-1} \cdot V_{\text{c}} + \sum_{i=0}^{t-1} C_{\text{at}} \cdot \text{fd}^{-1} \cdot V_{\text{a}}}{D} \times 100 \% \quad (\text{Equação 7})$$

Onde,

C_{at} = concentração de HCTZ nas alíquotas diluídas (mg/mL) no tempo t

fd = fator de diluição das alíquotas das cubas

V_{c} = volume do meio de dissolução nas cubas (900mL)

V_{a} = volume da alíquota retirada das cubas (10mL)

D = quantidade declarada de HCTZ nos comprimidos (50mg ou 12,5mg)

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- A solubilidade da HCTZ, tanto em HCl 0,1N quanto em água, é influenciada pela granulometria. Não há diferença estatisticamente significativa entre as solubilidades obtidas para as matérias-primas A e VF nos meios testados, enquanto que a diferença existe quando estas são comparadas a matéria-prima R.
- A dissolução intrínseca em disco, nas condições de ensaio empregadas, não permite que sejam visualizadas diferenças na velocidade de dissolução de matérias-primas de hidroclorotiazida que se distinguem apenas pela sua distribuição granulométrica.
- O dispositivo descrito na USP 27 (2004) para determinação da dissolução intrínseca em disco favorece o aprisionamento de bolhas de ar na face inferior e na superfície da pastilha, causando variabilidade nas leituras a cada amostragem. Além disso, face ao elevado peso do conjunto, há um aumento do balanço da haste e conseqüentemente da pastilha, o que não é observado com a utilização do dispositivo modificado, que se mostrou mais apropriado para determinação da dissolução intrínseca em disco, obtendo-se menor variabilidade entre as réplicas.
- A dissolução particulada obtida através da adição do material diretamente às cubas mostra-se um método simples e eficaz na obtenção de dados sobre o comportamento da dissolução de matérias-primas de diferentes granulometrias.
- A utilização de membrana de diálise para determinação da dissolução particulada demonstrou ser de difícil execução. O método não é considerado promissor para a avaliação da dissolução intrínseca de matérias-primas, em virtude da necessidade do meio dissolvente penetrar no invólucro e estabelecer-se um equilíbrio de transferência de massa para o seio do solvente.
- Todos os produtos avaliados apresentaram-se de acordo com as especificações físico-químicas pertinentes aos comprimidos de HCTZ de liberação imediata.

- Os ensaios para avaliação da dissolução de comprimidos de HCTZ de liberação imediata descritos nas atuais edições das Farmacopéias Americana e Brasileira não são discriminativos o suficiente para distinguir entre formulações produzidas com HCTZ de diferentes granulometrias, pois o critério simples de avaliação em um único tempo de amostragem apresenta um valor de Q muito baixo (60%). Avaliando-se a dissolução da HCTZ em diferentes tempos de amostragem, o ensaio descrito na USP 27 (2004) mostra-se capaz de distinguir os produtos avaliados, enquanto que o da F. BRAS. IV (1996), ainda assim, é pouco capaz de distingui-los.
- Condições mais brandas de ensaio para verificação da dissolução de comprimidos de HCTZ conforme o proposto, onde se utiliza água desgaseificada como meio de dissolução e a pá ajustada a 50 rpm, poderiam ser mais apropriadas para a verificação lote a lote e a avaliação entre produtos com a finalidade de assegurar a identificação de um potencial problema de formulação.
- O ensaio de dissolução de matérias-primas é útil na previsão do comportamento destas quando formuladas, pois com base na comparação efetuada, verifica-se que matérias-primas de menor velocidade de dissolução irão gerar produtos com maior TMD.
- Os produtos A e B apresentam perfis de dissolução semelhantes independentemente das condições de ensaio empregadas, apresentando consistência para as razões entre o TMD das formulações, que variam entre 1,2 e 1,6, e os fatores f_1 , de 9% a 12%, e f_2 , de 62% a 66%. Por outro lado, os produtos C e D são afetados pelas condições de teste utilizadas, apresentando diferentes razões entre o TMD, que variam de 1,9 a 3,5 e f_1 , de 15% a 54% e f_2 , de 32% a 53%.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDOU, H. M. Dissolution. In: *Remington: the science and practice of pharmacy*. 19. ed. Easton: Mack Publishing Company, 1995. v.1, 593-604 p.
- AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, v. 12, p. 413-420, 1995.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. *Farmacotécnica – formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000. 25-175 p.
- ANVISA. *Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução*. Resolução RE nº 310, de 1º de setembro de 2004, DOU 03.09.2004. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2004/re/310_04_re.htm>. Acesso em: 02 fev. 2005.
- _____. *Regulamento técnico para medicamentos genéricos*. Resolução RDC nº 135, de 29 de maio de 2003, DOU 12.08.2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/135_03rdc.htm>. Acesso em: 11 mar. 2005.
- _____. *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003, DOU 02.06.2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 02 fev. 2005.
- _____. *Guia para Estudos de Correlação In Vitro-In Vivo (CIVIV)*. Resolução RE nº 482, de 19 de março de 2002, DOU 20.03.2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/re/482_02re.htm>. Acesso em: 02 fev. 2005.
- BRASIL. Lei nº 9.787, de 10 de fevereiro de 1999, DOU 11.02.1999. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/lei/1999/9787_99.htm>. Acesso em: 11 mar. 2005.
- BARREIRO, E. J. & FRAGA, C. A. M. *Química Medicinal – As bases moleculares da ação dos fármacos*. 1.ed. Porto Alegre: Artmed Ltda, 2001. 119 p.

- BLUME, H. H. & SCHUG, B. S. The biopharmaceutics classification system (BCS): class III drugs – better candidates for BA/BE waiver. *European Journal of Pharmaceutical Science*, v. 9, p. 117-121, 1999.
- BRITISH PHARMACOPOEIA 2002. London: The Stationery Office, 2002. Vol. I e II.
- BROWN, C. K. et al. Acceptable analytical practices for dissolution testing of poorly soluble compounds. *Pharmaceutical Technology*, v. 25, p. 56-62, 2004.
- CALLEGARI-JACQUES, S. M. *Bioestatística – princípios e aplicações*. 1.ed. Porto Alegre: Artmed Ltda, 2003. 153-164 p.
- CDER/FDA. Guidance for industry. Scale-up and post approval changes (SUPAC). 1995. Disponível em: <<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>>. Acesso em: 02 fev. 2005.
- CHAN, H. & GRANT, D. J. W. Influence of compaction on the intrinsic dissolution rate of modified acetaminophen and acid crystals. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 57, p. 117-124, 1989.
- CHENG, C. et al. Biowaiver extension potential to BCS class III high solubility-low permeability drugs: bridging evidence for metformin immediate-release tablet. *European Journal of Pharmaceutical Science*, v. 22, p. 297-304, 2004.
- CONCHA, A. M. Las pruebas oficiales de disolución in vitro. In: ARANCIBIA, A. & PEZOA, R. Biodisponibilidad de medicamentos. Santiago: Editorial Universitária San Francisco, 1992. v.1, 171-8 p.
- CORVELEYN, S. & REMON, J. P. Bioavailability of hydrochlorothiazide: conventional versus freeze-dried tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 173, p. 149-155, 1998.

- COSTA, P. An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 220, p. 77-83, 2001.
- _____. Avaliação in vitro da bioequivalência de formulações farmacêuticas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 28, n. 2, p. 141-150, 2002.
- DEF. *Dicionário de Especialidades Farmacêuticas 2003/2004*. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 2000. 412 p.
- DEBNATH, S. & SURYANARAYANAN, R. Influence of processing-induced phase transformations on the dissolution of theophylline tablets. *AAPS Pharmaceutical Science Technologies*, v. 5, p. 1-13, 2003.
- DESAI, D. S. et al. Effects of different types of lactose and disintegrant on dissolution stability of hydrochlorothiazide capsule formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 110, p. 257-265, 1994.
- DESAI, D. S. et al. Effects of formaldehyde formation on dissolution stability of hydrochlorothiazide bead formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 107, p. 141-7, 1994.
- DRESSMAN, J. B. & REPPAS, C. In vitro-in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Science*, v. 11, p. 73-80, 2000.
- DRESSMAN, J. B. et al. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharmaceutical Research*, v. 15, p. 11-22, 1998.
- ESPOSITO, E. et al. Spray dried Eudragit[®] microparticles as encapsulation devices for vitamin C. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 242, p. 329-334, 2002.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988. Parte I.

- _____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1996. 1º Fascículo. Parte II.
- GANGULY, S. et al. Evaluation of the stability of creatine in solution prepared from effervescent creatine formulations. *AAPS Pharmaceutical Science Technologies*, v. 4, p. 25-29, 2003.
- GILMAN, A. G. *Goodman e Gilman's – As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 235 p.
- HANSON, W. A. *Handbook of Dissolution Testing*. 2.ed. Oregon: Aster Publishing Corporation, 1990. 5-12 p.
- HARRIS, D. et al. Oral availability of a poorly absorbed drug, hydrochlorothiazide, from a bioadhesive formulation in the rat. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 56, p. 97-102, 1989.
- JACKSON, A. J. *Generics and Bioequivalence*. 1. ed. Philadelphia: CRC, 1994. 289 p.
- KATZUNG, B. G. *Farmacologia Básica e Clínica*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 267 p.
- KOROLKOVAS, A. & BURCKHALTER, J. *Química Farmacêutica*. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 442-3 p.
- LIEBERMAN, H. A. & LACHMAN, L. *Pharmaceutical Dosage forms: tablets*. 1. ed. New York: Dekker, 1980. v.1, 25-31 p.
- LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system. *European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics*, v. 58, p. 265-278, 2004.
- LÖBENBERG, R. & AMIDON, G. L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international

regulatory standards. *European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics*, v. 50, p. 3-12, 2000.

- MARTIN, A. *Physical pharmacy – physical chemical principles in pharmaceutical sciences*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. 324-342 p.
- MARTINDALE. *The Complete Drug Reference*. 32. ed. London: Pharmaceutical Press, 1999. 680-3 p.
- MAUGER, J. et al. Intrinsic dissolution performance testing of the USP dissolution apparatus 2 (rotating paddle) using modified salicylic acid calibrator: proof of principle. *Dissolution Technologies*, v. 21, p. 86-73, 2003.
- MWAMBETE, K. D. et al. The effect of solubilization on the oral bioavailability of three benzimidazole carbamate drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 272, p. 29-36, 2004.
- NYSTRÖM, C. How to formulate a tablet for instant dissolution of practically insoluble drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 4, p. 64-8, 1996.
- PELTONEN, L. et al. Dissolution testing of acetylsalicylic acid by a channel flow method – correlation to USP basket and intrinsic dissolution methods. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 19, p. 395-401, 2003.
- PODCZECK, F. Comparison of in vitro dissolution profiles by calculating mean dissolution time (MDT) or mean residence time (MRT). *International Journal of Pharmaceutics*, v. 97, p. 93-100, 1993.
- QURESHI, S. A. & SHABNAM, J. Cause of high variability in drug dissolution testing and its impact on setting tolerances. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 12, p. 271-6, 2001.

- RAWLE, A. Basic principles of particle size analysis. Disponível em: <<http://www.malvern.co.uk>>. Acesso em: 15 fev. 2005.
- SARGEL, L. & YU, A. B. C. *Applied Biopharmaceutics & Pharmacokinetics*. 4. ed. Connecticut: Appleton & Lange, 1999.
- SILVA, P. *Farmacologia*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1999. 357 p.
- SIEWERT, M. et al. FIP/AAPS guidelines to dissolution/in vitro release testing of novel /special dosage forms. *AAPS Pharmaceutical Science Technologies*, v. 4, p. 1-9, 2003.
- _____. Regulatory aspects of modified release dosage forms: in vivo/in correlations. *Boll. Chim. Farmaceutico*, v. 132 (1), p. 10-23, 1993.
- SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid chromatography method for pharmaceutical analysis – understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopoeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of Chromatography A*, v. 987, p. 57-66, 2003.
- SJÖKVIST, E. et al. Physicochemical aspects of drug release. IX. Investigation of some factors that impair dissolution of drugs from solid particulate dispersion systems. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 54, p. 161-170, 1989.
- STORPIRTIS, S. & CONSIGLIERI, V. O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo*, v.31, n. 2, p. 63-70, 1995.
- SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W.; VILLIERS, M. M. Quality evaluation of generic drugs by dissolution test: changing the USP dissolution medium to distinguish between active and non-active mebendazol polymorphs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 55, p. 345-9, 2003.

- THE MERCK INDEX: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13. ed. New Jersey: Merck & Co., 2001. p.628 –629.
- UPPOOR, V. R. Regulatory perspectives on in vitro (dissolution)/in vivo (bioavailability) correlations. *Journal of Controlled Release*, v. 72, p. 127-132, 2001.
- VIEGAS, T. X. et al. Intrinsic drug dissolution testing using the stationary disk system. *Dissolution Technologies*, v. 8, p. 11-15, 2001.
- VUEBA, M. L. et al. Influence of cellulose ether polymers on ketoprofen release from hydrophilic matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics*, v. 58, p. 51-9, 2004.
- UNITED STATES PHARMACOPOEIA. 27. ed. Toronto: Webcom, 2004.
- YU, L. X. et al. Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 270, p. 221-7, 2004.
- WASHINGTON, C. Drug release from microdisperse systems: a critical review. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 58, p. 1-12, 1990.
- WOOD, J. H.; SYARTO, J. E.; LETTERMAN, H. Improved holder for intrinsic dissolution rate studies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 54, p. 1068, 1965.